الجمهوريـــة الجزائريـــة الديمقراطيـــة الشعبيـــة

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة الـتعلـيـم الـعـالي و الـبـحـث الـعـلـمــي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى أسطمبولي

معسكر

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de sciences biologiques

Laboratoire de bioconversion

THESE de DOCTORAT en SCIENCES

Spécialité : sciences de la nature et de la vie

Intitulée

Etude des bactéries thermorésistantes dans le lait

Présentée par : Mme FERNANE BOUMEDINE HABIBA

Le : 01/07/2017

Devant le jury :

Président	Mr.Meddah Boumediene	Pr.	Université M. S. de Mascara
Examinateur	Mr Kihal Mebrouk.	Pr.	Université d'Oran
Examinateur	Mr Aggad Hebib	Pr.	Université de Tiaret
Examinateur	Mme Ghazi Kheira	MCA	Université de Tiaret
Encadreur	Mme Tirtouil Meddah.A	Pr.	Université de M. S. de Mascara
Co-encadreur	Mr Benbarek Hama	Pr.	Université de M. S. de Mascara

Année Universitaire : 2016-2017

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً نُسْقِيكُمْ مِمَّا فِي بُطُونِهِ مِنْ بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَبَنًا خَالِصًا
سَائِغًا لِلشَّارِبِينَ ﴾ سورة النحل الآية (66)

And indeed, for you in livestock is a lesson. We give you drink from that which is in their bellies, and for you in them are numerous benefits, and from them you eat.
(The Believers 66)

Il y a certes un enseignement pour vous dans les bestiaux : Nous vous abreuvons de ce qui est dans leurs ventres, des matières digérées et du sang, un lait pur, agréable pour les buveurs (Les abeilles 66)*

Remerciements

A Monsieur le professeur Meddah Boumediene,
De L'Université Mustapha Stambouli de Mascara, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommage respectueux.
A Madame le professeur Tirtouil Aicha, de L'Université Mustapha Stambouli de Mascara,
Qui nous a guidé dans ce travail. Votre soutien, votre respect et votre patience m'ont beaucoup touché. qu'elle trouve ici l'expression de notre respect et notre reconnaissance,
Sincères remerciements.
A Monsieur le professeur Hama Mebarek, de L'Université Mustapha Stambouli de Mascara, pour votre soutien et votre aide bienveillante,
Sincères remerciements.
A Monsieur le professeur Kihel Mabrouk, de L'Université D'ORAN qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse,
Sincères remerciements.
A Monsieur le professeur Aggad Habib, de L'Institut Vétérinaire de Tiaret,
Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse,
Sincères remerciements.
A Madame Ghazi Kheira Maitre de conférences, de L'Institut Vétérinaire de Tiaret,
Pour votre soutien et votre aide bienveillante, sincères remerciements.
A Monsieur Benaichata Lazreg Maitre de conférences, de la Faculté de Biologie de Tiaret,
Pour votre aide précieuse dans la réalisation de l'étude statistique. Grand merci d'avoir pris le temps de me répondre aussi rapidement quand j'en avais le plus besoin.
Un merci particulier à l'ensemble des enseignants de la dite faculté :
Monsieur Sassi Mohamed ; Monsieur Ait Hamou ; Monsieur Laaredj Hocine et à **Madame Rezoug Wafa** pour leur accueil chaleureux ; leur conseil et encouragement au cours de la réalisation de ce travail.
A Monsieur Midoun Sissani qui nous a fait bénéficier de son aide en langue anglaise et de ses conseils très fructueux.
A Monsieur Daham M'hamed pour le travail de la mise en forme de ce document.
Mes plus vifs remerciements s'adressent également,

A mes idolâtres parents, pour m'avoir toujours comblée d'amour et d'affection,
Soutenue, rassurée et aidée,merci pour tant de patience et de dévouements.

A mon mari,

Merci pour tes encouragements, ton aide précieuse, ton soutient sans faille.
Et pour tous les sacrifices consentis tout le long de ce travail.

A mes deux petites Kaouthar et Bouchra, précieuses perles, pour leurs patiences et aides infaillibles merci pour vos encouragements vivifiants.

Et à tous mes neveux et nièces, je souhaiterai vous voir tous dans le bain de la science.

A Zoulikha, pour m'avoir tant soutenue, pour ton aide précieuse et efficace,
Pour l'énergie investie.

A tous mes frères et sœurs, pour tant d'encouragements et tant de soutien remerciements chaleureux.

A Kheira.G. Qui m'a initié dans ce projet malgré toutes les circonstances.

A Fadhéla.S. qui sait rester si calme et posée,Pour tant de soutien d'aide et tant d'encouragement.

A KARIMA.C. pour tant de soutien et tant d'encouragement. grand merci pour m'avoir poussé à activer mon travail.

A MOKHTAR.B. merci pour tant de soutien d'aide et tant d'encouragement et de conseils avisés.je souhaite par ailleurs remercier tout le personnel du **:**

- **Laboratoire de l'unité GIPLAIT de TIARET** et particulièrement les responsables des différentes structures de l'unité et leurs éléments actifs pour leur implication dans le cadre de cette thèse.
- **Laboratoire de microbiologie de l'institut vétérinaire de Tiaret**,

Grand merci à **karima .A. Walid.M. Amine.,** pour leur aide durant ces années de travail.

- **Laboratoire de recherche scientifique de monsieur Boukraa** et spécialement mademoiselle **Fatiha .B.** pour sa disponibilité, son aide et sa gentillesse.
- **Laboratoire des fraudes de Tiaret** pour leur accueil chaleureux leur bonne humeur leurs encouragements et leur aide : Mme Ghafoul.z.et toute l'équipe du service physico-chimique et microbiologique.
- **Laboratoire de recherche scientifique de monsieur Aggad.H,**

  Grand merci à Redhouan pour sa disponibilité à chaque moment difficile.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à :

- **Khaldia.k., à Fziza** et à Mohamed les bons vivants de la bibliothèque de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret. Merci pour ton aide fructueuse khaldia.
- **Kalbaza.y**. Pour m'avoir ramené les produits. Bon courage dans ton travail.
- **Fadia** et son époux **Salim** pour leur aide précieuse. Remerciements chaleureux.

Pour finir,

Que tous ceux qui ont été impliqués de près ou de loin dans la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude : sans votre contribution il m'aurait été impossible de mener à bien ce projet.



Résumé

40 échantillons de lait cru de mélange stockés dans un tank et 100 échantillons de lait conditionné pasteurisé ont été prélevés et analysés au niveau de l'unité GIPLAIT SIDI KHALED de Tiaret.

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques sont généralement proches des normes, seul le taux de la matière grasse est inférieur à la norme standard avec une moyenne de 29.07 et 27.3 g/ l pour le lait cru et le lait pasteurisé conditionné respectivement. Le taux moyen de l'EST pour le lait est inférieur à la norme de l'ordre de 117.2 g/l.

L'analyse microbiologique a porté sur cinq groupes microbiens : parmi les groupes indicateurs d'hygiène (flore totale thermorésistants et Coliformes) et certains groupes potentiellement pathogènes (*Staphylococcus. aureus* et *Clostridium-sulfito-réducteurs).*Les niveaux de contaminations ont été interprétés sur la base des critères microbiologiques définis par l'arrêté interministériel du **JORA (1998).**

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale des échantillons de lait de mélange et de lait a révélé de fortes contaminations avec des fréquences respectives de 100% et de 55%.

Les échantillons de lait sont également contaminés par les Coliformes fécaux et les *Streptocoques fécaux* avec des fréquences respectives de 67.5% et 92.5 % pour le lait cru et est de 41 % et 100% pour le lait pasteurisé conditionné. .

Clostridium-sulfito-réducteurs se retrouvent à une fréquence de 15% dans le lait cru et de 34% dans le lait pasteurisé conditionné.

La présence de germes pathogènes est essentiellement attribuée aux *Staphylocoques .aureus* avec une fréquence respective de 90% pour le lait cru et 61% pour le lait pasteurisé conditionné. 66.6% des échantillons de lait cru et 86.88% de lait pasteurisé conditionné sont coagulases positives.

La recherche des résidus d'antibiotiques a montré une contamination de 25% des échantillons de lait cru.

Mots clés : Bactéries thermorésistantes, contamination du lait, pasteurisation, qualité hygiénique.

Abstract:

A total of 40 samples of raw mixtured milk were collected and stored in a bulk and 100 *pasteurized milk samples* were *taken* and analysed at a local dairy processing firm called GIPLAIT SIDI KHALED in Tiaret .

The physicochemical results were almost very near to standards .However, the rate of fat was lower than the standard with an average of 29.07 g / l for raw milk and 27.3 for the Packaged pasteurized raw milk.Besides, we found that the average was below the standards in the l'EST of the about 117.2g .

Microbiological analysis included five microbial groups: among the hygiene indicator groups Total (thermo resistant and coliform flora) and some potentially pathogenic groups (Staphylococcus aureus and Clostridium-sulfito-reducers) The levels of contamination were interpreted on the basis of the microbiological criteria defined by the interministerial decree *JORA* (Journal Officiel de la République Algérienne) (1998).

The total aerobic mesophilic flora count of the mixed milk and pateurised milk samples revealed respectively high levels of contamination with 100% and 55% frequencies.

Through analyzes, We found that Milk samples are also contaminated with faecal coliforms and faecal streptococci with a frequency of 67.5% and 92.5% for mixed milk and 41% and 100% for pateurised milk. However, Sulfito-reducing Clostridia are at a frequency of 15% in mixed milk and 34% in pateurised milk.

The presence of pathogenic germs is mainly attributed to Staphylococcus aureus with a frequency of 90% and 61% for mixed milk and pateurised milk. They were coagulase positive in 66.6% and 86.88% for the samples of raw milk and raw pasteurized milk.

Finally, the search for antibiotic residues showed us a contamination of 25% of raw milk samples.
***Keywords**:* Heat resistant bacteria, milk contamination, pasteurization, hygienic quality.

ملخص:

تم جمع (40) عينة من خليط الحليب النيئ المخزن ومائة عينة من الحليب (أكياس) من وحدة " Giplait"سيدي خالد بتيارت. تقاربت نتائج التحاليل الفيز وكيميائية مع المعايير القياسية، فقط نسبة الدهون كانت أقل من المعتاد بمعدل 29,07 و 27,3غرام لتر بالنسبة للحليب النيئ (الخليط) والحليب المبستر (أكياس)على التوالي، وبلغ متوسط معدل مجموع المواد الصلبة للحليب المبستر117,2غرام / لتر دون المعايير القياسية.

شمل التحليل المكروليولوجي خمس مجموعات ميكروبية(البكتيريا الخطيرة ،المكورات العنقودية المذهبة وكلوستريدوم- سلفينالحد) فسرت مستويات التلوُث على أساس المعايير المكروبيولوجية التي حددها القرار الوزاري للجريدة الرسمية الجزائرية (1998) .

بلغ معدل البكتيريا متوسطة الحرارة للحليب النيئ 100% و55% للحليب المبستر وبلغت نسبة القولونيات البرازية والعنقدية البرازية على التوالي 67,5% و92,5 % للحليب النيئ و41% و100% للحليب المبستر، وأيضا هناك وجود كلوستريديوم سلفيت الحد بنسبة 15%في الحليب و 34% في الحليب المبستر. وجود البكتيريا الضارة يتعلق أساسا بالمكورات العنقودية المذهبة مع ترددها بنسبة 90% في الحليب النيئ و61% في الحليب المبستر.

المكورات العنقودية المذهبة تعد مخثرة إيجابية بنسبة 66,6% و86,88% في الحليب النيئ والحليب المبستر على التوالي.

البحث عن بقايا المضادات الحيوية في الحليب النيئ أثبت تلوثه بنسبة 25%.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المقاومة للحراة، تلوث الحليب، البسترة، الجودة الصحية.

Liste des Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

AMM : Autorisation de la Mise sur Marché

B.S.A: Bovine Serum Albumin.

C.I.D.I.L: Centre Interprofetionnel de documentation et d'information

°D : degrés Dornic

ELISA: Enzyme –Linked-Immuno-Sorbent-Assay

ESD : Extrait sec dégraissé.

EST : Extrait sec total.

F.A.O:(Food and Agriculture Organisation) Organisation des Nations unies pour

FDA: Food and Drug Administration

GAMT: Germes aérobies mésophiles totaux

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

HTST: High Temperature Short Time

I.N.R.A:Institut national de la recherche Agronomique

IgG: Immunoglobuline G

ISO : Organisation internationale de normalisation (International Organisation for Standardization)

J O R A : Journal Officiel République Algérienne

LMR : Limite Maximale des Résidus

LMR : Limite Maximales des Résidus

µm : micromètre

Mol : mole : Unité de base du système international.

ng/ml: nano gramme/ millilitre

ohm^{-1} :(mho épelé à, l'envers) :$1\Omega^{-1}$: Unité de conductance électrique.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

Pa : Pascal : Unité de mesure de la pression.

PCA: Plat Count Agar

pH : Potentiel Hydrogène

Ppm:partie par million

SM: Solution mère

SRC : Clostridium sulfito-réducteur

TSE :Tryptone-sel-eau.

TTA : Toxi-infection Alimentaire

UFC : Unité Formant Colonie

UHT : Ultra haute température

VF : Viande Foie

VRBL: Violet Red Bile Lactose Agar

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction Génerale

Le lait est un composant majeur de notre diète quotidienne ; il occupe une place stratégique dans notre alimentation et constitue une source importante équilibrée en nutriments de base (protéines, glucides et lipides), en vitamines et en minéraux, notamment en calcium alimentaire.

De nos jours, les besoins en lait sont de plus en plus importants vu que ce produit peut être consommé à l'état frais, mais aussi sous forme pasteurisé, stérilisé ou transformé en produits dérivés.Cependant, le lait est un milieu favorable au développement d'une multitude de bactéries de contamination ; capables d'utiliser ses protéines, lipides, glucides et vitamines pour leur croissance. Il est donc nécessaire et avant sa consommation d'appliquer un contrôle initial de qualité microbiologique et physico-chimique afin d'assurer et de garantir une certaine sécurité hygiénique et un niveau de qualité organoleptique.

En conséquence, le lait ne devrait être consommé ou utilisé, dans la fabrication de produits dérivés, qu'après une pasteurisation formelle.

De ce fait ; et en raison des besoins croissants en cette denrée périssable la technologie laitière a innové des processus évolués, comme la pasteurisation et la stérilisation, pour une conservation plus longue.

Le processus de pasteurisation du lait repose sur un traitement thermique dont le but est de réduire à une concentration minimale les bactéries pathogènes; à un point où ces derniers ne présenteront aucun risque pour la santé du consommateur. De plus, ce traitement thermique luttera contre les enzymes bactériennes indésirables et contre les bactéries spoliatrices du lait; cela permettrait en final la préservation de la qualité nutritionnelle du produit original **(MPI NZ, 2013).**

Toutefois, certains agents responsables de zoonoses peuvent résister au processus de pasteurisation du lait et occasionner des problèmes chez le consommateur **(Fleming *et al* 1998);**ainsi, le contrôle de l'hygiène du circuit de la pasteurisation du lait est indispensable.Egalement, il faudrait considérer les conditions dans lesquelles le lait est produit ; incluant unemaîtrise des règles d'hygiène relatives aux différents stades de manipulation du produit, après pasteurisation.

L'hygiène du lait est une question qui intéresse et la FAO et l'OMS. En travaillant au développement de la production laitière, la FAO cherche à continuer, d'une part, à améliorer les conditions de vie des populations rurales et à renforcer les économies agricoles nationales et d'autre part à augmenter l'approvisionnement des usines laitières en lait de meilleure qualité.

Dans son programme mondial de formation laitière, elle attache une importance particulière aux règles d'hygiène à observer à tous les stades de la manutention du lait, depuis la production jusqu'à la consommation. Quant à l'OMS, son intérêt pour la question découle du souci qu'elle a de sauvegarder et d'améliorer la santé de l'homme et révèle de quatre préoccupations principales : prévenir la transmission de maladies des animaux à l'homme prévenir la propagation par le lait contaminé de maladies transmissibles humaines, prévenir les maladies et les déficiences physiques que peut causer la malnutrition, enfin améliorer l'état de nutrition des êtres humains, en général, des nourrissons des enfants et des mères en particulier.

En Algérie, des travaux se sont intéressés à l'évaluation de la qualité, compositionnelle et sanitaire, du lait de vache cru et pasteurisé **(Aggad *et al,* 2010).**

Ainsi l'analyse du lait et l'identification de ses microorganismes est primordiale et est indispensable pour l'industrie laitière.

Dans ce contexte notre travail a été réalisé afin d'évaluer et d'apprécier la salubrité et la qualité du lait commercialisé au niveau de la willaya de TIARET.

Le présent manuscrit porte principalement les objectifs suivants :

- L'évaluation des caractères physico-chimiques de certains échantillons de lait cru de l'unité GIPLAIT de TIARET.
- La recherche des germes pouvant contaminer le lait.
- Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru pasteurisé.
- Mise en évidence de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait.

Chapitre I

Le lait

1. Définitions

1.1. Définition du lait :

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes : « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne contenir de *colostrum* ». Le lait sans indication de l'espèce de provenance correspond au lait de vache**. (LARPEN *et al*, 1997).**

Selon **FREDOT(2007**), le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène, à la caséine et à la vitamine B_2.

1.2. Définition réglementaire du lait :

Selon l'arrêté interministériel **(JORA N°69, 1993)**, relatif à la spécification, et à la présentation de certains laits de consommation la définition réglementaire du lait est comme suit :

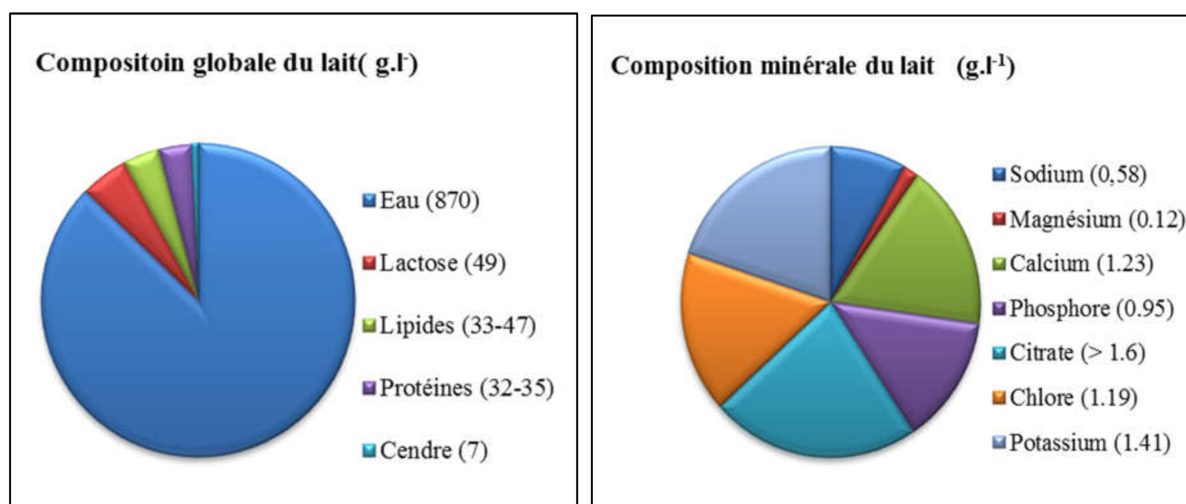
Art 2 : La dénomination «lait» est réservée exclusivement au produits de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une où plusieurs traites sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

2. Composition chimique du lait :

Le lait, proche du plasma sanguin, est un sérum comportant une émulsion de matière grasse, une suspension de matière protéique caséeuse, du lactose, des sels et minéraux, des protéines solubles et des traces d'éléments divers.

Les principaux constituants du lait sont donc par ordre décroissant :

- De l'eau très majoritairement ;
- Des glucides principalement représentés par le lactose ;
- Des lipides essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras ;
- Des protéines: caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles ;
- Des sels et minéraux à l'état ionique et moléculaire ;
- Des éléments à l'état de traces mais au rôle biologique important : enzymes, vitamines, oligo-éléments…



☞***Figure 01.*** Composition globale du lait de vache avec le détail de sa composition minérale. **(ROMAIN *et al.*, 2008).**

Ainsi, la composition du lait varie selon les espèces animales mais aussi selon différents facteurs tels que l'individualité, la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge.

En règle générale, l'eau est le constituant principal du lait. La proportion des autres constituants varie selon les espèces.

☞***Tableau 1.*** Composition moyenne du lait de différentes espèces **(Lebeuf . *et al*, 2002)**

Animaux	Eau (%)	Protéines (%)	Matières grasses (%)	Glucides (%)	Minéraux
Vache	87,5	3,3	3,3	4,7	0,7
Chèvre	87,0	2,9	3,8	4,4	0,9
Brebis	81,5	5,3	7,4	4,8	1,0
Chamelle	87,6	3,0	5,4	3,3	0,7
Jument	88,9	2,5	1,9	6,2	0,5

2.1. Eau

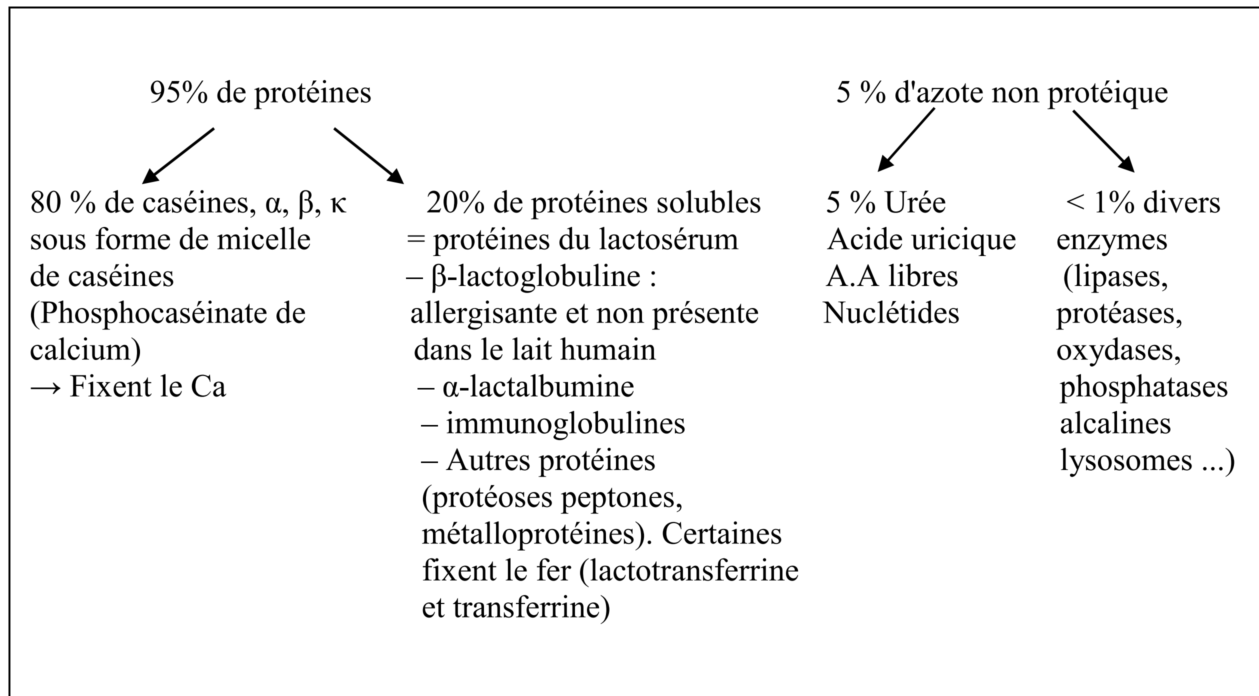
C'est de loin le composé le plus abondant : 902 g par litre. En elle, sont dispersés tous les autres constituants du lait et tous ceux de sa matière sèche **(MATHIEU, 1998).**

2.2. Matières azotées et protéines :

Les protéines du lait de vache sont composées à 80 % de caséine, une protéine susceptible de coaguler en milieu acide ou sous l'action de la présure. La caséine se présente

sous forme de molécules agrégées liées à du phosphate de calcium, les micelles.

Les autres protéines du lait sont surtout la lactalbumine et la lactoglobuline protéines solubles de haute valeur nutritive.



☞ ***Figure 02.*** Répartition des fractions azotées du lait **(CHEFTEL *et al*, 1992).**

Le lait contient en moyenne 3.5 % de protéines. Cette teneur varie selon l'alimentation de l'animal, la saison et le cycle de lactation **(FREDOT, 2007).**

La composition totale de la matière azotée du lait de vache est présentée dans le tableau 2

☞ ***Tableau 02.*** Composition moyenne et distribution des protéines du lait (ROMAIN et *al*, 2008)

	Proportion	**Composition moyennes (g/l)**
Totale	100	34.0
Protéines	95	32.3
Caséines :		
caséine	46	12.0
caséine ß	34	9.0
caséine k	13	3.45
caséine γ	7	1.85
Protéines solubles :		
β -lactoglobuline	50	2.9
α -lactalbumine	22	1.3
Sérum-albumine	5	0.3
Globulines immunes	12	0.7
Protéoses peptones	10	0.6
Substances azotées non protéiques	5	1.7

2.3. Matières grasses:

Le lait de vache contient de 3 à 5 %de matière grasse dispersée sous forme de globule gras sphérique dont le diamètre varie de 0,1 à15 µm ; elle est composée principalement de Triglycérides (environ 98 %) , de phospholipides et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de stérols, et des précurseurs de la vitamine D des caroténoïdes dont la vitamine A et enfin de la vitamine E.**(MATHIEU ,1998 ; VIGNOLA *et al*,2002 ; LUQUET, 2005) .**

La composition lipidique moyenne du lait de vache est résumée dans le tableau n° 3 :

☞***Tableau 03 .*** Composition lipidique moyenne du lait de vache d'après **(CHRISTIE, 1995 ; Groguennec *et al* 2008).**

Constituants lipidiques	Proportions
Triacylglycérols	97.5
Diacylglycérols	0.36
Monoacylglycérols	0.027
Acides gras libres	0.027
Cholestérol	0.31
Hydrocarbures	Traces
Caroténoïdes	0.008
Phospholipides	0.6

2.4. Glucides

Le lait contient des glucides libres dont le principal est le lactose et des glucides associés aux protéines.

Le lactose est un disaccharide constitué d'une unité galactose et d'une unité glucose. Sa synthèse s'effectue dans les cellules lactogènes à partir du glucose sanguin en présence degalactosyl-transférase et d'α-lactalbumine. Avec une concentration de 48 à 50 $g.L^{-1}$, le lactose représente environ 97% des glucides totaux du lait de vache. Il participe au maintien de la pression osmotique dans le système mammaire en association avec les éléments minéraux du lait (K^+, Na^+, Cl^- pour l'essentiel) **(ROMAIN *et al*, 2008).**

Le lactose est le constituant du lait, le plus rapidement attaqué par action microbienne, les bactéries transforment le lactose en acide lactique, cette transformation parfois gênante est souvent utilisée en industrie laitière et notamment pour l'obtention des laits fermentés et yaourt**. (ALAIS, C 1984).**

C'est le composant majeur le plus simple et le plus constant du lait. C'est un sucre extrêmement rare en dehors de sa présence dans le lait.

2.5. Sels organiques et minéraux

La matière minérale et saline du lait, d'environ 9 g/l, répartis de manière complexe est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. En effet, le lait contient tous les éléments minéraux indispensables à l'organisme.

Le lait est riche en phosphore, calcium, sodium et chlorures ; il contient peu de soufre et il est très pauvre en fer et en oligoéléments ; phosphore et calcium sont les principaux minéraux du lait (phosphore ; 90 mg /ml ; calcium ; 125 mg/100 ml). La teneur en sodium est en moyenne de 50 mg/100 ml, et celle de potassium en moyenne de 150 mg /100 ml. Le lait est très pauvre en fer (0.042 mg/ml) **(APFELBAUM *et al*, 2004)**.

Le lait contient également d'autres oligo-éléments indispensables pour l'organisme humain tels que le zinc, le cuivre, le fluor, l'iode et le molybdène.

✐**Tableau 04 .** Constituants salins majeurs du lait **(ADRIAN *et al*, 1995)**

Constituants	Teneur moyenne (g/l)
Calcium	1,25
Phosphore	0,95
Magnésium	0,13
Sodium	0,50
Potassium	1,50
Acide citrique	1,75

Les principaux macroéléments rencontrés dans le lait sont, le calcium, le phosphore, le magnésium, le potassium, le sodium et le chlore (**NEVILLE *et al*, 1995).**

2.6. Vitamines:

Ce sont des substances organiques qui, à l'état de trace, permettent la croissance, l'entretien, le fonctionnement de l'organisme; celui-ci est généralement incapable de les synthétiser le lait figure parmi les, aliments qui contiennent la plus grande variété de vitamines, toute fois, les teneurs sont souvent assez faibles **(VEISSEYRE, 1979).**

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine de groupe B et vitamine C) en quantités constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) en quantités variables dépendant de facteurs exogènes (race, alimentation, radiation solaires, etc.) **(ROMAIN *et al.*, 2008).**

Le tableau 5 donne les différentes teneurs en vitamines que l'on trouve dans le lait.

☞ ***Tableau 05.*** Composition vitaminique moyenne du lait cru

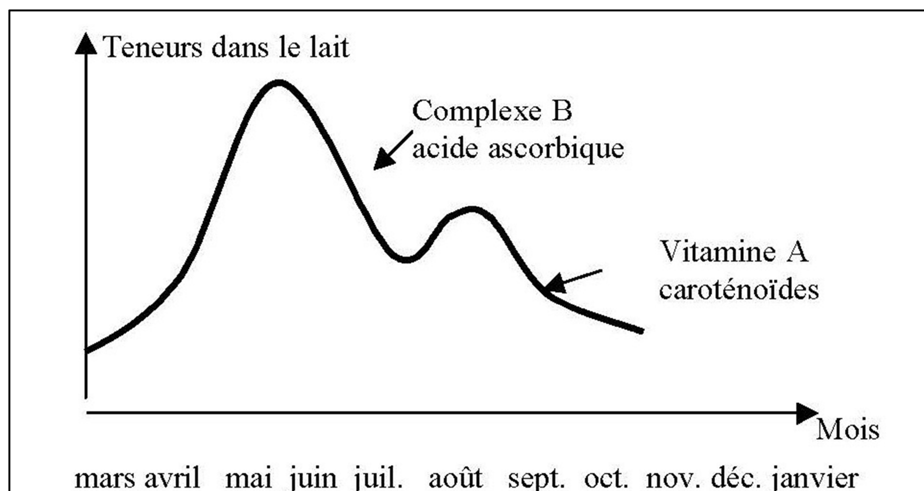
Vitamines	Teneur en µg / l (d'après Jensen, 1995)	Teneur en µg / l (d'après Adrian, 1987
B1, thiamine	388	400
B2, riboflavine	914	1700
B6, pyridoxine	554	600
B12, cobalamine	4	6
PP, niacine	1300	900
Acide folique	60	2
Acide pantothénique	3251	3200
Biotine	47	40
C	30000	20000
A, rétinol		500
Carotène	310	30
2D	0,4	1
E tocophérols	400	1700
K	3	100

Dans le lait des ruminants, seules les vitamines liposolubles sont d'origine alimentaire et les conditions de vie de l'animal exercent une influence sur les teneurs vitaminiques du lait: les productions estivales offrent donc un plus grand intérêt que les laits de stabulation. Au contraire, la vitamine C offre un taux relativement constant en raison de sa synthèse régulière dans l'épithélium intestinal.

Un certain nombre d'études ont été effectuées sur différents troupeaux (en particulier une de Wolster, 1997), celles-ci ont démontré que la teneur en vitamines dans le lait est sujette aux variations annuelles comme le montre la figure .3.

L'origine de ces variations annuelles est poly factorielle: elle dépend de la saison, de la photopériode mais également de l'alimentation **: (REMOND *et* JOURNET, 1987)**

Ainsi, nous constatons, qu'un lait de vache au pâturage est plus riche en vitamine qu'un lait de vache en stabulation. (**ADRIAN, J1987).**



☞ ***Figure 03.*** Évolution annuelle des teneurs du lait en vitamines **(Wolster, 1997)**

2.7. Enzymes:

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ soixante enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont vingt sont des constituants natifs **(BLONC, 1982).**

Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes ; la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile.

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

- Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipase, protéase) ;
- Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et Lysozyme) ;

- Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétylestérase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthine-oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre). **(LINDEN G,1987).**

Quelques-unes des enzymes du lait et leurs caractéristiques apparaissent dans le tableau suivant :

☞ ***Tableau 06.*** Quelques-unes des enzymes du lait (Mathieu, 1998).

Nom	Répartition	pH optimum	Masse molaire en $g.mol^{-1}$	Le teneur en $mg.L^{-1}$
1- oxydoréductases.				
Lactoperoxydase.	Lactosérum	6.5-6.8	Environ 80000	10-70
Xanthine oxydase	Membrane globulaire	7	600000	120-160
Catalase	Membrane globulaire	6.8-7	240000	
2-hydrolase				
Phosphatase alcaline	Membrane globulaire	7-10	170000	
Lysozyme	Lactosérum	8	14000-18000	
Lipase naturelle	Caséine	7-9	50000	
Protéase alcaline	Caséine	7.5-8	48000	
Protéase acide	Caséine	4	36000	

Le lait contient de nombreuses enzymes, mais leur étude est difficile car on ne peut pas toujours facilement séparer les enzymes naturelles du lait de celles qui sont sécrétées par les microbes présents dans le liquide **(PELMONT ,1993).**

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases **(VIGNOLA, 2002).**

3. Propriétés physiques du lait :

Le lait est considéré comme une émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse comprenant de nombreux éléments dont les uns sont à l'état dissout et les autres sont la forme colloïdale. **(AKLI ,2011).**

3.1. Aspect :

Le lait apparait comme un liquide opaque blanc mat, plus au moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse, en β carotènes (CUDEC ,2001), deux fois plus visqueux que l'eau de saveur légèrement sucrée. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable.

Le lait est considéré comme une émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse comprenant de nombreux éléments dont les uns sont à l'état dissout et les autres sont la forme colloïdale. **(AKLI ,2011).**

☞ ***Tableau 07.*** Caractères physiques du lait cru **(LARPENT, 1997)**

	Caractère normal	**Caractère anormal**
Couleur	Blanc mat Blanc jaunâtre Lait riche en crème	Gris jaunâtre : lait de mammite Bleu, jaune; lait coloré par des substances chimiques ou des pigments bactériens.
Odeur	Odeur faible	Odeur de putréfaction, de moisis, de rance.
Saveur	Saveur agréable	Saveur salée : lait de mammite Gout amer: lait très pollué par des bactéries.
Consistance	Homogène	Grumeleuse: mammite. Visqueuse ou coagulée: pollution bactérienne.

3.2. Densité et masse volumique

La masse est le quotient de la masse d'un certain volume de lait à 20°C, par ce volume, elle s'exprime en g/ml.

La densité du lait est le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20°C **(MATHIEU, 1998).**

4. Propriétés physico-chimiques du lait :

Parmi les nombreuses caractéristiques du lait : la masse volumique, la matière sèche entre autres. Deux dépendent essentiellement de ses substances acides ou basiques: le pH et l'acidité.

Ceux-ci ont une importance exceptionnelle par l'abondance des indications et des renseignements qu'ils donnent sur la richesse du lait en certains de ses constituants, son état de fraicheur ou sa stabilité **(MATHIEU, 1998).**

4.1. Le pH du lait :

Le pH du lait frais normal est de l'ordre de 6,7.

Cette valeur est due en grande partie aux groupements basiques ionisables et acides dissociables des protéines, aux groupements esters phosphoriques des caséines et aux acides phosphoriques et citriques **(MATHIEU, 1998).**

4.2. L'acidité du lait :

Le lait est légèrement acide en ce sens qu'il faut lui ajouter une solution basique pour le neutraliser, plus précisément pour entraîner le changement de couleur d'un indicateur coloré. L'acidité du lait est une acidité de titration.

On exprime couramment l'acidité du lait en degrés Dornic (1°D = 0,1 g d'acide lactique par litre de lait**)** ; officiellement et par convention, on la donne en grammes d'acide lactique par litre du lait.

Un lait frais, dont le lactose n'a pas encore été transformé en acide lactique, a une acidité de l'ordre de 16°D. Conservé à la température ambiante il s'acidifie spontanément et progressivement. C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation de lactose en acide lactique par divers types de micro-organismes. **(MATHIEU, 1998).**

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont résumées dans le tableau qui suit :

☞ ***Tableau 08.*** Principales propriétés physico-chimiques du lait **(JEANTET *et al.* ,2008).**

Pression osmotique	~ 700,10^3 Pa
Activité d'eau	~ 0,993
Point d'ébullition	~ 100,15C°
Point de congélation	~ -0.53C°
Indice de réfraction	1,3440-1.3485
Masse volumique (à 20C°)	~ 1030 Kg.m^{-1}
Conductivité spécifique	~ 0,0050 ohm^{-1}.cm^{-1}
Force ionique	~ 0,08 Mol
Tension interficiale (20C°)	~ 47-53 N.m^{-1}
Viscosité (lait non homogénéise)	~ 2 ,0.10 Pa
Conductibilité thermique (à 20C°) (Lait à3% de matière grasse)	~ 0.56 w.m^{-1}.K^{-1}
Diffusité thermique (15-20C°)	~ 1.25.10m^2.s^{-1}
Choleur spécifique	~ 3900 J.Kg^{-1}.K^{-1}
pH (à 20C°)	6.6-6.8
Acidité titrable	15-17°D
Coefficient d'exposition thermique (273K-333K)	0.0008m^3.m^{-3}.K^{-1}
Potentiel oxydoréduction (20C°, PH 6,6 et en équilibre avec l'air)	+ 0.25 à + 0.35 v

5. Composition biologique du lait cru :

Le lait est un aliment biologique qui présente un intérêt nutritionnel évident. Sa composition, ses propriétés physico-chimiques font un milieu très favorable à la multiplication des micro-organismes. Néanmoins, la multiplication des micro-organismes naturellement présents dans le lait ne débute pas immédiatement après la traite en raison des propriétés bactériostatiques naturelles du lait. Cette protection est efficace pendant les heures qui suivent la traite. Il faut profiter de cette période pour refroidir le lait afin de freiner la croissance microbienne **(FAYE et LOISEAU, 2002).**

Un lait de bonnes conditions hygiéniques à partir d'animaux sains ne doit pas contenir plus de 500 00 bactéries /ml. Il est important que le lait ait ; s'il est destiné à la consommation ou à la production laitière, une bonne qualité hygiénique ; cependant s'il a une mauvaise qualité, les produits résultant seront de qualité médiocre et d'une faible acceptabilité (**O'CONNOR , 1993**).

5.1. Flore microbienne du lait :

Le lait est de par sa composition, un aliment de choix ; il contient des matières grasses, lactose, protéines, sels minéraux, des vitamines et de 87 % d'eau. Son pH est de 6,7, il va être un substrat très favorable au développement des microorganismes. **(GUIRAUD, 1998).**

5.1.2. Flore originelle :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml et moins de 1 coliformes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes : micrococques, streptocoques lactiques et lactobacilles. **(LARPENT, 1997).**

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées «Lacténines» mais leur action est de très courte durée (1 heure environ) **(GUIRAUD, 1998).**
D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade: ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire. Il peut s'agir d'agents de mammites. C'est-à-dire d'infection du pis : Streptocoques pyogènes (*Streptococcus*), *Corynébactéries pyogènes, Staphylocoques,…etc.*

Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de listériose; *Mycobactérium*, agent de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon.

Les germes ordinaires du pis ne présentent pas de danger sanitaire mais peuvent se développer abondamment dans le lait. Les autres peuvent être responsables de maladies ou

d'intoxications graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs. **(GUIRAUD, 1998).**

Levures et moisissures

Les levures associées au lait sont les espèces suivantes : *Geotrichumhansenii, Kluyvermyceslactis*, *Saccharomyces cerevisiae, Yarrowialipilytica, Candida kefyr, Torulopsislactis –condensi* .

Les moisissures liées aux produits laitiers sont les suivantes : *Geotrichumcandidum, Sporendonemmsebi,Penicillum,Rhizopus,Mucor,Cladosporiumherbarum,Scopulariopsisfusca, Trichodermaviridae, Alternariaalternata, Botrytis cinerea, Cylindrecarponheteronema, Trichotheciumroseum, Fusarium, Byssochlamys***(BOURGEOIS *et al.*, 1996)**

5.1.3. Flore de contamination:

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de micro-organismes.

Une partie seulement d'entre eux peut se multiplier dans le lait si la température est favorable et le milieu propice. Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à un autre et suivant l'âge du lait **(BOURGEOIS *et al*, 1996).**

Le lait se contamine par des apports microbiens d'origines diverses:

Fèces et téguments de l'animal: *Coliformes*, *Entérocoques*, *Clostridium*, éventuellement Entérobactéries pathogènes (*Salmonella*,*Shigella*, *Yersinia*)etc.

Sol: *Streptomyce*s, *Listéria*, bactéries sporulées, spores fongiques, etc. ;

Litières et aliments: flore banale variée, en particulier *Lactobacilles*, *Clostridiumbutyriques*;

Air et eau: Flores diverses dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées, etc. ;

Equipement de traite et de stockage du lait: *microcoques*, *Levures* et flore lactique avec *Lactobacilles*, *Streptocoques* (*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Entérococcus*), Leuconostoc, …etc. Cette flore est souvent spécifique de l'usine;

Manipulateurs: *Staphylocoques* dans le cas de traite manuelle, mais aussi germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales, etc.;

Vecteurs divers (insectes en particulier): flore de contamination fécale.

Parmi ces micro-organismes, il en est d'inoffensifs, d'autres de dangereux du point de vue sanitaire, d'autres capables d'entraîner la détérioration du lait. **(ENRY, 1977 *in* BORGOIS, 1996).**

5.2. Inhibiteur du développement microbien dans le lait

Il s'agit d'un groupe de substances que l'on désigne sous le terme de lacténine. On peut le subdiviser en deux parties selon le type d'inhibition :

– **Inhibition spécifique**

Elle est due aux immunoglobulines. Ce sont des anticorps produits dans la glande mammaire **(ALIAS, 1983).**

– **Inhibiteur non spécifique**

La lactoperoxydase est assez abondante dans le lait de vache, elle est active surtout contre les *Streptocoques pyogènes* et quelques *Streptocoques lactiques*. Cette enzyme est plusthermorésistante que les immunoglobulines. Le lysozyme est également connu comme bactéricide mais le lait de vache en contient trop pour qu'il puisse jouer un rôle notable.

D'autres inhibiteurs ont été signalés en très faible quantité dans le lait cru comme la lactoférine mais il ne faut pas compter sur cette activité seule pour assurer la conservation du lait cru **(GUIRAUD, 1998).**

5.3. Action de la flore du lait

5.3.1. Aspect sanitaire

Des germes pathogènes peuvent être présents dans le lait. Certains sont capables de se multiplier d'autres sont simplement transmis.

La tuberculose due au *Mycobacterium* du lait est rare; les brucelloses sont plus fréquentes en particulier à partir du lait de chèvre (*Brucella melitensis)*.

Des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes peuvent être causées par les salmonelles, des toxi-infections ou intoxications par des *Staphylocoques*. Des mycotoxines peuvent être aussi présentes dans les produits laitiers soit qu'elles proviennent d'animaux ayant consommé des aliments contaminés (Aflatoxine M issue de la transformation in vivo d'aflatoxine d'*Aspergillus flavus*), soit qu'elles proviennent du développement direct des moisissures (*Penicillium cyclopium, Viridiatum*ou *Stoloniferum)* dans les poudres de lait **(GUIRAUD, 1998).**

5.3.2. Aspect qualitatif

De nombreux micro-organismes peuvent se développer abondamment dans le lait entraînant par leur action des modifications de texture et de goût. Ces altérations vont dépendre des conditions de stockage du lait (aération, température) et des traitements qu'il a subi **(GUIRAUD, 1998).**

5.3.2.1. Surissement et acidification avec coagulation

Le pH du lait est de 6.6, la plupart des micro-organismes du lait sont capables de fermenter le lactose en produisant une acidification qui entraîne la coagulation de la caséine. Les germes incriminés sont variables en fonction du type de contamination du lait et de la température du stockage.

De 10 à 37°C le germe le plus fréquemment impliqué est le *Lactococcus lactis (Streptococcus lactis)* avec plus rarement association des coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles.

Au-dessus de 37°C, les germes en cause sont : *Streptococcus thermophilus, Enterococcus faecalis (ex: Streptococcus faecalis)* ou *Lactobacillus bulgaricus* **(GUIRAUD, 1998).**

5.3.2.2. Protéolyse

Elle est favorisée par un long stockage à basse température. La protéolyse peut se manifester directement par l'odeur et par une légère alcalinisation du lait ; les germes sont *Micrococcus, Alcaligenes, Aeromonas, Bacillus, Clostridium, Pseudomonas,* et les autres germes de la flore banale Gram négatif. Ces micro-organismes interviennent directement ou parl'action de leurs enzymes thermostables. La protéolyse peut aussi se développer sur le caillé issu d'une acidification ; elle provoque alors la digestion de ce caillé **(GUIRAUD, 1998).**

5.3.2.3. Autres dégradations

Les pseudomonadaceae et les sporulés (Bacillus) peuvent dénaturer la matière grasse par oxydation des acides gras insaturés, par hydrolyse ou les deux.

D'autres germes, *Pseudomonas fluorescens*ou *Alcoligensfaecalis*provoquent une alcalinisation importante avec formation d'urée, d'ammoniac et de carbonate.

Lactococcuslactis peut donner au lait un goût de caramel. Enfin des micro-organismes pigmentés permettent d'entraîner des colorations parasitaires bleue (*Pseudomonas syncyanea)*, jaune (*Flavobactérium*) ou rouge (*Brevibactériumerythrogenes*) **(GUIRAUD, 1998)**

6. Qualité du lait cru

– **Définition de la qualité**

C'est un ensemble de propriétés et de caractéristiques d'un produit ou services qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites **(LARPENT, 1997).**

Cette qualité est évidemment importante en termes de santé du consommateur et de respect de la réglementation mais également pour les contraintes technologiques dont les besoins sont différents en fonction du produit final désiré : le fabricant de lait de consommation recherche un lait biologiquement stable alors que le fromager a besoin

d'enzymes qui interviennent pendant l'affinage.

6.1. Paramètres de la qualité

Le lait est un produit naturel qui se dégrade rapidement de nos jours, donc l'acheteur fixe son cout en fonction de son excellente qualité en matière d'hygiène, fraicheur, d'odeur et de gout en plus de sa valeur nutritive essentiellement sa teneur en protéines en matières grasses. **(KUZDAL et SAVOIE ,1982)**

La qualité du lait concerne sa faculté de conservation et son aptitude à être transformer avec un bon rendement en dérivés sains, savoureux et de haute valeur nutritionnelle **(WOLTER, 1997).**

La qualité du lait aura tendance à se baser sur des critères analytiques quantitatifs, le taux butyreux, le taux protéique, le taux de contamination en microorganismes, ainsi que les inhibiteurs de croissance de la flore microbienne **(BAMOUH, 2006).**

6.1.1. Matière grasse

Le lait de vache est un aliment très riche en graisse. Cette distribution est en relation avec plusieurs facteurs à savoir l'alimentation, le stade de lactation, l'âge, la saison et la qualité du lait produit **(TREMOLIERE *et al*, 1980).**

L'essentiel de la matière grasse est lipidique (99.5%) constituée essentiellement de glycérides. La fraction restante malgré son faible taux (0.5%) n'a pas d'intérêt car elle est très diversifiée **(GOURSAUD, 1985).**

La valeur énergétique du lait dépend de son taux de lipides, la moyenne étant de 640 cal/litre **(DERACHE, 1986).**

6.1.2. Matière protéique

Le lait de vache est riche en protéines. La teneur moyenne d'un lait normal est d'environ 60 à 35 g de protéine par litre ce qui représente 95% de l'azote total présent dans le lait **(CHEFTEL *et al*, 1984).**

Les protéines du lait présentent un énorme avantage du point de vue économique. Sont les protéines de haute valeur biologique les moins chères **(LEDRERER, 1985).**

En plus les protéines du lait sont particulièrement importantes pour le transfert de certains minéraux et de certaines vitamines **(RIBARDAU, 1993).**

A côté des nutriments présentant des effets favorables, il en existe certains pouvant avoir un rôle néfaste comme des contaminants **(COULON *et al*, 2003).**

6.1.3. Qualité hygiénique

L'obtention d'un lait propre et sain exige un bétail sain, des locaux propres, des conditions de récolte satisfaisantes et une conservation du lait cru à basse température jusqu'à la livraison au consommateur ou à la laiterie pour empêcher le développement des microbes **(TREMOLIERE *et al*, 1980).**

Pour améliorer la qualité du lait, il faut éviter l'apport des microorganismes à tous les stades de production, détruire les germes qu'on n'a pas pu éviter par la chaleur, inhiber la croissance des germes qu'on n'a pas pu détruire **(BOURGEOIS *et al*, 1996).**

6.1.3.1. Pratiques générales d'hygiène

a) Alimentation

Compte tenu de l'utilisation finale du lait, les aliments et le fourrage destinés aux animaux laitiers ne devraient présenter aucun risque d'introduction directe ou indirecte dans le lait de contamination en quantités présentant un risque inacceptable pour la santé du consommateur ou susceptible de compromettre la salubrité du lait ou des produits laitiers **(CODEX ALIMENTARIUS, 2004).**

b) Traitement contre les nuisibles

La lutte contre les nuisibles devrait être effectuée de manière à éviter la présence de résidus tel que les pesticides à des niveaux inacceptable dans le lait.

Les nuisibles tels que les insectes et les rongeurs sont des vecteurs d'introduction de maladies humaines et animales dans le milieu de production. Une application inappropriée des substances chimiques utilisées pour lutter contre ces nuisibles peut entraîner des dangers chimiques dans le milieu de production **(CODEX ALIMENTARIUS, 2004).**

c) Résidus de médicaments vétérinaires

Les résidus sont des substances redoutables qui peuvent exister dans le lait **(HARDING, 1982).** L'origine de ces substances peut être à la fois, le traitement des maladies et l'alimentation.

Les résidus regroupent les bactériostatiques, anti-fongiques et des pesticides qui sont présents à des proportions variables **(BERNET, 1996).** L'usage des antibiotiques contre les infections des bovins laitiers au cours de la période de lactation traduit par la présence des résidus dans le lait qui présentent un danger potentiel pour le consommateur **(HILLERTON *et al*., 1998).**

6.1.3.2. Acidité du lait cru

L'acidité du lait peut être un indicateur de la qualité du lait au moment de la livraison. Un lait frais titre 16 à 17°D **(LEDRERER, 1985).**

Selon la réglementation algérienne, un lait ne doit pas dépasser 1.8 g d'acide lactique/l (18°D), **(J.O.R.A N°69, 1993).**

Le tableau ci-dessous montre l'influence de l'acidité titrable sur la stabilité du lait à différentes températures.

☞ **Tableau 09.** Stabilité du lait à différentes température en fonction de l'acidité titrable et du pH (LUBIN, 1998).

pH	Acidité titrable (g/l)	Température °C	Etat du lait
6,6-6,8	1,6-1,8	0-150	Normal
6,4	2,0	110-120	Floculation
6,3	2,2	100	Floculation
6,1	2,4	75	Floculation
5,2	5,5-6,0	20	Floculation

7. Contamination du lait

7.1. Contamination bactérienne

Les agents infectieux ou micro-organismes peuvent provenir des animaux, de l'environnement, des matières premières ou du personnel, potentiellement porteurs de germes.

Les conditions de transformation, de transport et de commercialisation pourront offrir des conditions de développement favorables à ces micro-organismes qui se multiplieront alors rapidement. Les autres dangers sont la contamination par des résidus chimiques notamment des résidus d'antibiotiques ou d'autres impuretés dans le lait ou dans les autres matières premières **(BROUTIN *et al.*, 2005).**

7.1.1. Agents infectieux provenant des animaux

Tout animal susceptible de transmette un germe pathogène par le lait. En particulier les animaux malades de tuberculose ou de brucellose donnent du lait contaminé en agents infectieux qui sont respectivement *Mycobacterium*et *Brucella* **(BROUTIN *et al.*, 2005).**

7.1.1.1. Tuberculose

Mycobacteriumtuberculosis est l'agent causal de la tuberculose **(PRESCOTT *et al.*, 2003).**

Cette bactérie est également pathogène pour l'homme et elle est transmise par le lait cru **(BROUTIN *et al.*, 2005).**

L'infection par *M.bovis* constituait 1 à 5 % des cas de tuberculose humaine, en majorité des localisations extra pulmonaires. Ces formes essentiellement liées à la consommation du lait**(GANTERE, 2003).**

7.1.1.2. Brucellose

La brucellose est due à une bactérie appartenant au genre *Brucella*, trois espèces responsables de pathologies humaines ; *Brucella melitensis* ,*Brucella abortus et Brucella suis* **(BENDIB, 1997).**

C'est une zoonose alimentaire, transmise par consommation des produits laitiers, laits ou fromage frais. L'homme étant l'hôte accidentel, il se contamine par voie directe lors de l'ingestion des produits laitiers non pasteurisés, ou indirecte en rentrant en contact avec les animaux infectés (fermier, vétérinaire) **(GANTERE, 2003).**

7.1.1.3. Fièvre Q

C'est une zoonose aiguë répartition mondiale causée par *Coxiellaburetii***(PRESCOTT *et al.*, 2003)**.

La contamination humaine peut s'opérer selon trois modalités :

- Inhalation de gouttelettes virulentes dans le local d'élevage après avortement notamment).
- Par contact direct avec l'animal infecté (contamination de lésions cutanées par exemple).
- Par ingestion de lait cru contaminé **(GANTERE, 2003).**

7.1.1.4. Infection de la mamelle (mammite)

- **Définition**

Les mammites sont des inflammations de la mamelle, accompagnées dans certains cas d'atteintes de l'état général et principalement provoquées par des infections bactériennes **(SEEGERS, 2000).**

D'après **MATHIEU (1998),** une mammite est une infection avec ou sans inflammation. Les laits produits dans ces conditions sont dits pathologiques ou laits de mammites. Parmi les microbes qui pénètrent dans les conduits et les citernes malgré le sphincter responsable de la fermeture du canal du trayon plusieurs espèces de bactéries des genres *Staphylococcus* et *Streptococcus*.

7.2. Agent infectieux présents dans l'environnement ou dans les matières premières

Au cours des manipulations (à la ferme, les usines de transformation du lait), le lait est susceptible d'être infecté par divers micro-organismes principalement des bactéries. Le degré de l'infection et la composition de la population bactérienne dépendent de la propreté de l'environnement de la vache et des surfaces avec lesquelles cette dernière entre en contact, par exemple le seau ou la trayeuse, le filtre, le bidon à lait, entre autres.

Les surfaces mouillées par le lait représentent généralement une plus grande source d'infection pour le pis **(BROUTIN *et al*, 2005).**

Au moment de la traite, la contamination est habituelle. Le lait d'une vache saine à la sortie du pis est pratiquement pur à l'exception des premiers jets qui sont chargés de germes. Ils doivent être éliminés car ils sont souillés surtout lorsque la traite a lieu dans des conditions peu hygiéniques **(HUGUES *et al*, 1993).**

La contamination du lait et des produits laitiers peut être aussi l'œuvre de germes dangereux pour la santé du consommateur. Ainsi *Staphylococcus aureus* peut produire des entérotoxines dont l'ingestion provoque des vomissements souvent accompagnés de diarrhées ; *Salmonella* peut provoquer les mêmes symptômes caractéristiques d'une toxi-infection alimentaire qu'*Esherichia coli* **(BEUVIER, 2005).**

☞ **Tableau 10.** Source de contamination du lait à différentes étapes, (**FAYE et LOISEAU, 2002).**

Etape	*Dangers*	*Causes*
Ferme	Contamination fécal: *E. coli, Salmonella, Clostridium.* Contamination par les germes del'environnement Multiplication des bactéries sur le matériel de traite Contamination par des bactéries pathogènes: *Staphylococcus aureus, Streptococcus, Mycobactérium, Brucella, E. coli.* Contamination par des résidus chimiques.	Transmission par les mains du trayeur, contamination parl'animal lors de la traite. Lait laissé à l'air libre durant la traite Nettoyage et désinfection inefficaces Animaux atteints de mammites: *Staphylococcus, E. coli.* Homme : *Staphylococcus, Streptococcus.* Animaux porteurs sains : tuberculose, brucellose Non respect des temps d'attente des spécialités vétérinaires.
Transports	Accroissement des flores microbiennes Contamination par le matériel	Temps de transport trop long, à des températures élevées. Nettoyage et désinfection inefficaces du matériel.
Centre de collecte	Contamination croisée Contamination humaine Contamination par des germes de l'environnement Développement de flore coliforme	Nettoyage et désinfection inefficaces du matériel. Absence ou mauvaise qualité de contrôle de la qualité du lait avant mélange. Contacts mains – lait lors des prélèvements Utilisation d'eau contaminée pour le nettoyage du matériel. Absence de réfrigération.

7.3. Dangers chimiques

Le développement de l'industrie pharmaceutique et l'usage croissant de produis antiparasitaires, des antibiotiques entraînant la présence possible de substances chimiques indésirables dans les produits alimentaires appelés résidus.

Parmi les substances contaminants souvent détectées dans le lait les antibiotiques. Il est essentiel que les producteurs soient vigilants en maintenant une bonne hygiène au sein du troupeau et lors de la traite ainsi qu'en suivant le mode d'utilisation des produits chimiques **(MICHEL et WATTIAUX, 1998).**

7.3.1. Résidus de médicaments dans le lait

Le lait provenant d'animaux ayant été traités par des médicaments à usage vétérinaire pouvant être transmis au lait ne devrait pas être utilisé à moins que le délai de retrait spécificité pour le médicament en question ait été respecté.

Il est établi que l'utilisation inappropriée de médicaments vétérinaires entraîne la présence de résidus potentiellement nocifs dans le lait et les produits laitiers et compromettre la salubrité du lait destiné à la fabrication de produits de culture **(CODEX ALIMENTARIUS, 2004).**

7.3.2. Conséquences de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait

D'après **ALTHAUS *et al.* (2003),** la présence des résidus des agents antimicrobiens dans le lait constitue un danger potentiel pour le consommateur et peut causer des réactions allergiques, interférer avec la flore intestinale et provoquer des résistances bactériennes. Les pertes importantes sont celles provoquées dans les produits fermentés par inhibition du processus bactérien nécessaire à l'élaboration des fromages et des produits laitiers.

7.4. Dangers physiques

Corps étrangers

De la production à la consommation, des corps étrangers sont susceptibles de contaminer la chaîne alimentaire à toutes les étapes. De ce fait, les industriels sont très attentifs et mettent en places divers procédés pour lutter contre ce risque notamment par la mise en place de filtres, de plan de lutte contre les nuisibles et les mesures d'hygiène du personnel **(BOLNOT et QUINTARD, 2004).**

Chapitre II

Méthodes de conservation du lait et leur effet

1. Effet du froid sur le lait

1.1. Influence de temps de réfrigération sur la qualité bactériologique et biochimique du lait

De nombreuses études ont montré que l'incidence du froid sur les constituants du lait est loin d'être négligeable, en effet refroidissement et maintien prolongé au froid sont à l'origine de modifications d'ordre physico-chimiques, biochimiques et bactériologiques, ces modifications se traduisent par l'apparition d'une nouvelle flore adaptée au froid «flore psychrotrophe» **(SMITHWELL et KAILASAPATHY ,1995; GILLIS et ECK ,1997).**

☞ **Tableau 11.** Multiplication de la flore aérobie mésophile d'un lait refroidi **(AUCLAIR, 1979).**

Température de conservation °C	Nombre de bactéries /ml	Facteur de multiplication			
		24 h	48 h	72 h	96 h
4,5	4,200 137,000	1 2	1,1 3,9	2 5,5	4,7 6,2
10	4,200 137,000	3,3 8,5	30 98	136 182	9.400 300
15,5	4,200 137,000	380 175	7,860 4,600	77,800 17,500	229,000 38,600

☞ **Tableau12.** Evolution de la flore coliforme dans un lait refroidi **(VEILLET et PONCET, 1981).**

Nombre maximum de bactéries "totales" dans le lait à l'origine N	Durée maximale de conservation du lait refroidi entre 2°C et 4°C
N <10.000	4 jours
N <100.000	3 jours
N <500.000	2 jours
N >500.000	1jour ou moins

Ces temps comprennent la durée totale de conservation, c'est-à-dire à la ferme et à la laiterie quand elle a lieu.

Lorsque la qualité moyenne du lait fourni par les producteurs est médiocre, ce qui est encore le cas dans diverses régions, il est dangereux de dépasser 48 heures à 60 heures de conservation.

A la limite, avec les laits fortement contaminés, le stockage au froid devient sans objet.

La charge microbienne, la température et le temps ne sont pas les seuls facteurs qui interviennent sur la qualité du lait reçu à l'usine. Il faut aussi tenir compte d'éléments complémentaires tels que la vitesse de réfrigération, la remontée de température due aux apports successifs de lait chaud dans le lait refroidi et les conditions de la collecte qui seront étudiées ultérieurement. **(VEILLET et PONCET, 1981).**

1. 2. Effet de congélation sur le lait

La valeur moyenne du point de congélation du lait se situe entre – 0.54 et – 0.55 °C. On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race de la vache, à la région de production. On a par exemple signalé des variations normales de – 0.530 à – 0.575°C. Le mouillage élève le point de congélation vers 0°C, puisque le nombre de molécules, autres que celles d'eau, et d'ions par litre diminue. **(MATHIEU, 1998).**

La congélation du lait a un impact sur sa texture cependant un lait congelé peut se conservé jusqu'à six semaines sans que sa saveur et sa valeur nutritive en soient trop affectées**. (IPLC ,2015).**

1.3. Conservation du lait par la chaleur

1.3.1. Pasteurisation

1.3.1.1. Définition

Par définition, la pasteurisation est un traitement thermique qui consiste à chauffer le lait jusqu'à une température définie et à la maintenir pendant un temps donné **(BROUTIN et *al*, 2005).**

On distingue d'après **ROMAIN *et al* (2008) :**

- La basse pasteurisation à 65°C/30 min : utilisée en fromagerie et en laiterie
- La haute pasteurisation à 72°C/15 sec : réservée aux laits de bonne qualité hygiénique
- Flash pasteurisation (85-90°C/1-2 sec) : elle est destinée pour les laits crus de qualité moyenne.

1.3.1.2. Lait frais pasteurisé

Selon **C.I.D.I.L.(1999),** la pasteurisation de l'ordre de 72°C à 85°C pendant 15 à 20 secondes sur le lait entier, demi écrémé ou écrémé conserve toute les gustatives du lait cru, ce lait pasteurisé doit être conservé à +4°C, et consommé dans les sept jours qui suivent son conditionnement.

2. Effet des traitements technologiques sur la qualité du lait

Tous les constituants du lait (protéines, matière grasse, lactose, minéraux et vitamine) ne se retrouvent pas entièrement sous forme native selon les traitements appliqués. Les traitements mis en œuvre ne sont jamais inoffensif, ils entraînent toujours une perte de la valeur nutritionnelle **(Brule *et al*, 2008).**

2.1. Interaction des composants glucidiques

Selon **ADRIAN et LEPEN (1987),** ont donné sur l'interaction des composants glucidiques les points suivants :

- La haute température et/ou lors de très longue période de stockage il apparaît dans le lait des aldéhydes, des cétones et des substances réductrices elles interagissent avec certains acides aminés.
- Cette réaction dite Maillard intervient principalement entre le lactose et la β-lactoglobuline qui donne une couleur brune surtout dans les laits stérilisés et évaporés.
- On peut estimer la perte de la lysine à 1-2 %dans le lait pasteurisé, à 2-4% dans le lait UHT, à 5% dans le lait bouilli, à 5-10 % dans le lait stérilisé et à 20 % dans le lait évaporé.

2.2. Dégradation du lactose

La solubilité du lactose est faible par rapport à celle des autres sucres : elle est en fonction de la température **(ROMAIN *et al*, 2008).**

Le lactose se caractérise par sa fixation sur la β-lactoglobuline dans des conditions thermiques modérées. Dans le cas d'un traitement thermiques intense de la matière première (stérilisation), il y a formation d'un disaccharide : le lactulose qui résulte de l'isomérisation de la molécule glucose en fructose **(MAHAUT *et al*, 2000).**

Lorsque le chauffage est prolongé, le lactulose se dégrade en cétones, aldéhydes et acides lactiques **(VEISSEYRE, 1975).**

Selon THOMAS *et al* (2008), la formation du lactulose dépend de la température, du temps de chauffage et parfois même du pH du lait.

2.3. Cas des vitamines

Selon **FREDOT (2007)**, il n'a pas d'effet, non plus sur les vitamines liposolubles.

La pasteurisation provoque une légère perte de certaines vitamines hydrosolubles (B_1, B_6, B_9 et vitamine C).

La stérilisation UHT a des effets moindres quant à la perte des vitamines hydrosolubles (celle-ci ne dépassent pas 20%).

Lors de la pasteurisation du lait, la vitamine C est largement détruite. Ainsi il y a des pertes, en thiamine et en riboflavine.

Les différentes vitamines du lait ainsi que le pourcentage de perte après traitement sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

☞**Tableau 14 .** Effets des traitements thermiques sur les pertes en vitamines du lait en pourcentage (%). **(RECHCIGL, 1982).**

	Les différents types de vitamine						
Traitement	**B_1 ou Thiamine**	**B_2 ou Riboflavine**	**B_5 ou Pentothénate**	**B_6 ou Pyridoxine**	**B_{12}**	**A**	**D**
Pasteurisation	10	0	0	0	10	0	0
Ebullition	30	10	0	10	50	20	20
Séchage Spray	10	0	0	0	30	0	0
Stérilisation	35	0	0	50	90	0	0
Stérilisation UHT	10	0	0	10	10	0	0
Evaporation stérilisation	40	0	0	40	80	0	0
Evaporation stérilisation + sucre	10	0	0	1	30	0	0

2.4. Effet du chauffage sur la matière grasse

Un traitement thermique normal n'aboutit pas à la formation de produits de dégradation de la matière grasse qui nuirait à la qualité du lait. .

Les traitements thermiques (pasteurisation, traitement UHT) ont une action sur la membrane du globule gras et en particulier sur certaines lipoprotéines. La ß lactoglobuline s'associe également au globule gras par la formation de ponts disulfures ce qui augmente la teneur en protéines de la membrane du globule gras sans que la taille de ce dernier en soit augmentée **(Surel, 1999).**

2.5. Effet du chauffage sur les protéines

D'après **ROMAIN *et al*, (2008)**, le chauffage modifie la structure des protéines, et en conséquence leurs caractéristiques physico-chimique et fonctionnelles, par exemple on peut chercher à dénaturer certaines protéines pour améliorer la texture et le rendement (yaourt, fromage).

La stérilisation classique est responsable d'une dénaturation des protéines solubles (essentiellement des β-lactoglobulines) ce qui augmente leur digestibilité cependant, des réactions de Maillard ont lieu entraînant une diminution de la valeur biologique **(FREDOT, 2007).**

Les caséines sont très résistantes à la chaleur, les protéines sériques sont moins malgré cette résistance, les caséines peuvent tout de même être affectées et déstabilisées par la chaleur **(MARIE, 2006)**

☞ **Tableau 15 .** Dénaturation des protéines solubles du lait par divers traitement thermiques industriels **(VEISSEYRE, 1975).**

Condition de chauffage	Procédés	Importance de la dénaturation (%des protéines solubles dénaturant)
63°C- 30 mn	Pasteurisation basse	Négligeable
72°C - 15 à 20 sec	Pasteurisation HTST	Négligeable
80°C - 1mn	——	20%
145°C - 1 à 2 sec	Chauffage UHT	60%
80°C - 30 mn	——	90%
90°C - 5 mn	——	100%
115°C - 15 mn	Stérilisation par Autoclavage	100%

☞**Tableau 16.** Effet du traitement thermique sur les pertes en lysine exprimé en g/100g **(MOTTAR et NAUDTS, 1979).**

Traitements thermiques	Minimal	Moyenne	Maximal
Pasteurisation	0	2	5.8
UHT directe	1.4	4.3	7.7
UHT indirecte	1.9	6.5	19.9
Stérilisation en PE	6.0	8.9	24.5
Stérilisation en verre	8.1	11.3	26.1v

Selon MARSHALL et HARPER (1988), les protéines sériques sont sensibles à une température au-dessus de 50°C, du fait de leur forte teneur en acide aminés soufrés. Sous l'influence de la chaleur. Le degré de dénaturation dépend de la protéine même, du taux de matière sèche, de la température, du temps de chauffage, du pH et de la charge ionique. Les immunoglobulines sont les plus sensibles à la chaleur tandis que les Protéoses peptones sont stables et sur une large échelle de pH.

☞**Tableau 17.** Caractéristique des protéines solubles **(MARSHALL et HARPER, 1988).**

Principales protéines	Stabilité au Chauffage	Nombre de molécule de Lysine	Nombre de groupement sulfhydrile-SH
β-lactoglobuline	Sensible à la Chaleur	15	5
α-lactalbumine	Moins Sensibles	12	8
B.S.A	Stables	59	35
Lactoglobuline	Très sensibles	180	64
Protéoses Peptones	Stables	1-15	0

2.6. Effet du chauffage sur les minéraux

D'après **ROMAIN *et al*, (2007),** la température agit sur la solubilité du phosphate de calcium.

La solubilité du HPO_4Ca diminue avec l'élévation de la température en raison de la dissociation du $H_2PO_4^-$ en HPO_4^{2-} . Le HPO_4Ca se déplace alors au sein de la micelle de caséines ou il se dépose probablement sur les nano clusters de phosphate de calcium colloïdal. Dans le cas de traitement thermique intense, il y a également dissociation du HPO_4Ca en PO_4Ca^- qui interagit avec du Ca^{+2} pour former du phosphate tricalcique (PO_4) Ca_3 **(THOMAS *et al*, 2008).**

2.7. Effet du chauffage sur les enzymes

☞**Tableau 18.** Effet du traitement thermique sur l'activité enzymatique de la phosphatase et peroxydase **(JEAN, 1997).**

Techniques	Activité phosphatase	Activité peroxydase
− Lait cru	+	+
− Température Stérilisation UHT 140°C/2 sec 105°C/20 min	-	-
− Pasteurisation haute 85°C/2 min	-	-
− Pasteurisation basse 63°C/**20 min**	-	+

+ : Active. - : Désactive

Chapitre III

Les bactéries thermorésistantes dans le lait

1- Définition des bactéries thermorésistantes :

Les bactéries thermorésistantes, sont des bactéries capables de résister à des températures relativement élevées et de survivre à un chauffage de 63,5°C pendant 30min.

Ces conditions correspondant à celle de la basse température dans l'industrie laitière **(VIGNOLA *et al,* 2002).**

Á partir de 65-70°C, à condition de maintenir cette température pendant quelques minutes, la plupart des germes constituant la flore banale du lait, sont détruits .Toutefois un certain nombre de microorganismes peuvent subsister **(VEISSEYRE, 1975).**

Par convention, on appelle **bactériesthermorésistantes** celles qui résistent à un chauffage de 72°C pendant 15 s, ou à 63°C durant 30min **(WERBER ,1985).**Les deux traitements étant pour la plupart des microorganismes sensiblement équivalents **(POITURIER et ADDA, 1969).**

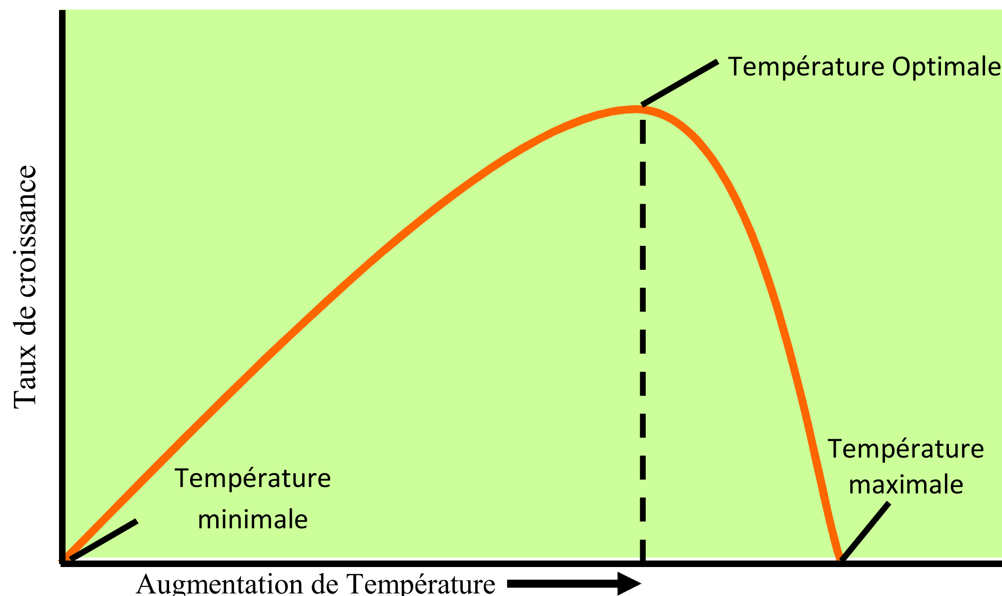
2. Effet de la chaleur sur les microorganismes :

La température est l'un des paramètres de l'environnement les plus importants vis-à-vis de l'impact sur la croissance et la survie des microorganismes **(MADIGON *et al,* 2007).**

2.1. Sur la croissance *:*

L'effet de la température sur le taux de croissance d'un microorganisme est décrit sur le graphique de la (figure n°4) pour une espèce donné **(JEROME *et al.* ,2004).**

Il existe une température minimale, une température maximale et une température optimale de croissance. Ces trois valeurs sont appelées températures cardinales **(JEROME *et al.* ,2004).**



☞ ***Figure .04.*** Croissance bactérienne en fonction de la température **JEROME *et al.* ,2004).**

On peut classer les microorganismes en fonction de leur croissance à différentes températures : les psychrophiles se développent à des températures basses, les mésophiles à des températures moyennes et les thermophiles à des températures élevées **(JEANTET *et al,* 2006).**

1-les psychrophiles se développent bien à 0°C et ont un optimum de température à 15°C ou moins ; le maximum est d'environ 20°C

2-Les mésophiles se développent à des températures optimales d'environ 20-45°C et ont une température minimale de 15 à 20°C. Leur maximum égal ou inférieur à 45°C.

3-Les thermophiles peuvent se développer à des températures 55°C ou plus, leur minimum est situé autour de 45°C, avec des optimum entre 55 et 65°C, ont des maximums au dessus de 100°C **(PRESCOTT *et al.* ,2003).**

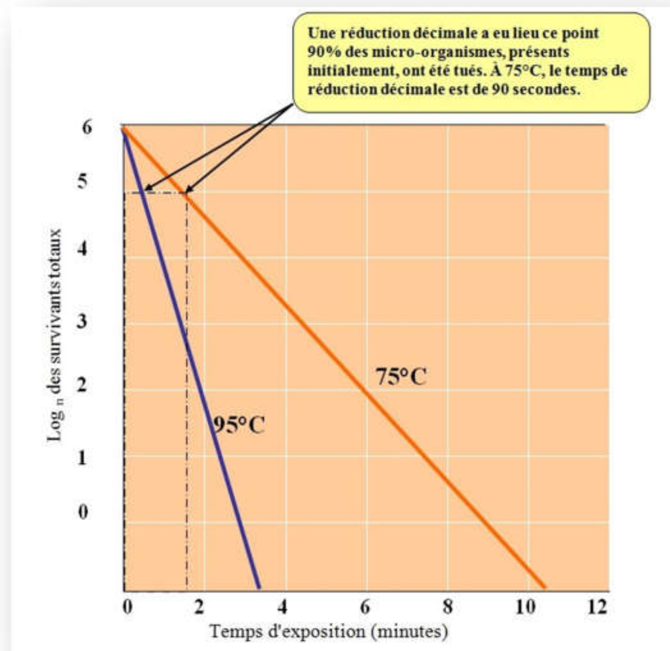
Ces limites de températures sont présentées dans le tableau n°19**.**

☞ **Tableau 19.** Classification des microorganismes selon la température de croissance **(VIGNOLA ,2002).**

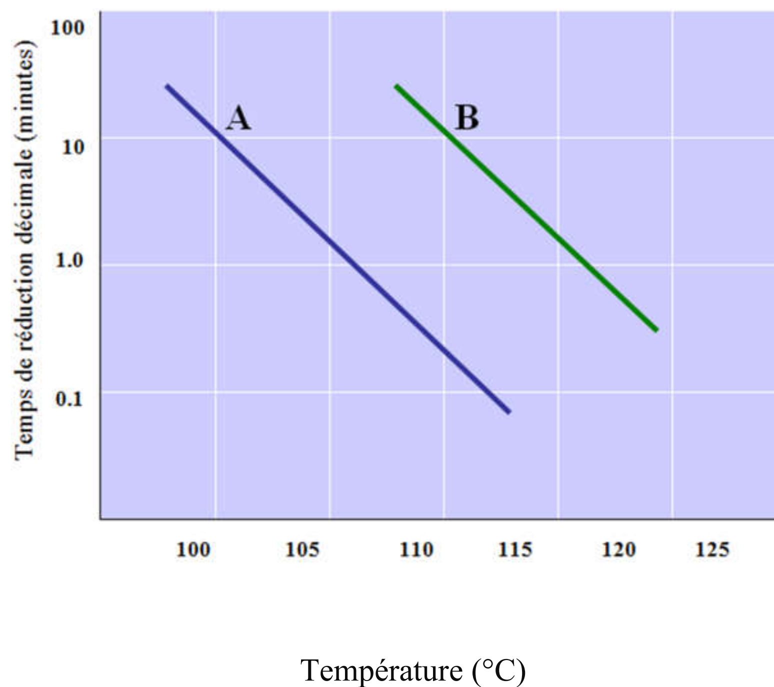
Classe	Températures moyennes (°C)		
	Minimale	**Optimale**	**Maximale**
Psychrophiles	0	22	30
Mésophiles	5	35	45
Thermophiles	40	55	70

2.2. Sur la survie :

L'effet de la chaleur sur la survie d'une bactérie est illustré dans la figure n°05 qui montre qu'une haute température (95°C) tue les microorganismes plus rapidement qu'une plus basse (75°C) **(JEROME *et al.* ,2004).**



☞ ***Figure. 05 .*** Effet de la température sur la survie des cellules bactériennes



Température (°C)

A : relativement thermorésistant

B : plus thermorésistant

☞***Figure.06.*** Temps de réduction décimale et sensibilité à la chaleur **(JEROME *et al.* ,2004).**

Après détermination des valeurs **D** à différentes températures, on peut estimer la résistance relative d'un microorganisme en calculant la valeur **Z**, c'est-à-dire l'accroissement de température nécessaire pour réduire **D** à 1/10 de sa valeur **(PRESCOTT *et al,* 2003).**

Des valeurs élevées de **D** et **Z** traduisent une thermo résistance élevée (*B.stearothermophilus*à 250°F possède une valeur de **D** de 4 à 5, et la valeur de **Z** se situe entre 14 et 22).

Des valeurs faibles de **D** et **Z** traduisent une thermo résistance faible (*Lactobacillus* et *Leuco nostoc* : **D** à 250°F est environ de 0,50-1,00 et **Z** se situe entre 8 et 10) **(OTENG ,1984).**

Un traitement thermique peut casser l'ADN, dégrader l'ARN, entraîner la perte des lipopolysaccharides et altérer la perméabilité de la membrane. Cependant le dommage le plus important concerne probablement les protéines protégeant les cellules contre un nouveau choc thermique, ces protéines seraient donc responsables de l'augmentation de la thermo résistance **(JEANTET *et al,* 2006).**

3. Résistance des bactéries à la chaleur :

3.1. Généralités :

Certaines constatations générales ont été faites à propos de la résistance des microorganismes à la chaleur. Pour les bactéries, sont les suivantes :

- Les cocci sont en générale plus résistants que les bâtonnets ;
- Une souche avec une température optimum et maximum élevées est plus thermorésistante qu'une autre avec une température optimum et maximum basses ;
- Un agrégat de cellules en amas est plus difficile à détruire que des cellules séparées les unes des autres ;
- La présence des capsules augmente la thermo résistance ;
- La présence des lipides augmente la thermo résistance **(OTENG ,1984).**
- Les bactéries à Gram positif ont tendance à être plus résistantes à la chaleur que les bactéries à Gram négatif **(GOLDEN *et al*, 2005).**

3.2. Classification des bactéries en fonction de leur résistance à la chaleur :

Le tableau suivant donne quelques valeurs de thermo résistance des bactéries du lait

☞**Tableau 20.** Classification des bactéries en fonction de leur résistance à la chaleur **(ECK, 1987).**

Microorganismes ou Enzymes	Température en °C à la quelle D= 1min
Lactobacillus et *Streptococcus* lactiques	65 à 80
Leuconostoc,Microbacteruim, Micrococcus.	65 à 90
Microorganismes pathogènes :	
Coxiella burnetti	65
Mycobacterium tuberculosis	63
	50 à 75
Autres :Brucella,Coliformes, *Corynébacteries,*Entérocoques*, Pseudomonas, Salmonella,* Staphylocoques*, Yersinia.*	85 à 100
Spores bactériennes :	
Bacillus se développe dans le fromage en semi –conserve :	80 à 90
Bacillus psychrotrophes	80 à 110
Clostridium sporogénes et *Clostridium tyrobutyricum* se développant dans les fromages à pâte cuite et les fromages fondus.	
Enzymes thermoresistantes :	
Protéases et lipases de *Pseudomonas* psychrotrophes et de *Micrococcus.*	130 à 190

3.3. Facteurs influençant la thermo résistance :

L'action de la température dépend de l'environnement, de l'état physico-chimique des cellules et de leur nombre **(MEYER ,2004)**.

La résistance des microorganismes à la chaleur varie selon plusieurs facteurs, les plus importants sont :

- **Relation temps température utilisée :**

Dans la pratique, on utilise la chaleur pour détruire les microorganismes .Les couples temps température permettent de définir :

- ✓ La pasteurisation : 63°C à 30 min, ou 72°C à 20 secondes ;
- ✓ La stérilisation : 121°C-20min **(BRANGER *et al,* 2007).**

Le temps de destruction des spores /cellules diminue lorsque la température augmente **(OTENG ,1984).**

- **Le nombre de cellules :**

Plus le nombre de bactéries est élevée initialement, plus nombreuses sont les cellules thermorésistantes, plus grandes sont les difficultés de les faire disparaître **LECLERC *et al.* ,1976).**

c. Les caractères de la souche :

La thermorésistance des microorganismes est extrêmement variable selon leur nature **(JOFFIN et JOFFIN, 1999).** La résistance des spores bactériennes est sensiblement plus élevée .

En effet ce sont des spores bactériennes thermorésistantes qui posent des problèmes au cours de la stérilisation **(REVIERE ,1975).**

- **Caractéristique du milieu de culture :**
- **Composition du milieu :**

Dans la solution aqueuse, la plupart des germes sous leur formes végétatives sont rapidement tués à la température 100°C .En revanche dans un milieu déshydraté, ils sont beaucoup plus résistants **(LECLERC, 1984).**

D'après **VEISSEYER (1975),** le rôle des éléments dissous dans le milieu est variable. Les glucides, les protéines, les sels, notamment le chlorure de sodium, tendant à augmenter la thermorésistance des germes.

La présence de certains ions contribue à la thermorésistance, la présence de Mn^{++} et Ca^{++} dans le milieu de sporulation augmente la thermoresistance des spores par exemple : *B.coagulans* **(OTENG, 1984).**

- **Température de croissance :**

La température de croissance pendant la formation des spores joue un rôle sur la thermoresistance de spores obtenues. Des spores formées dans des milieux de culture incubées à des températures élevées sont plus résistantes que des spores produites à des températures basses **(OTENG, 1984).**

Selon **JEANTET *et al.* (2006),** la thermorésistance n'est pas obligatoirement reliée à la thermophilie.

C'est le cas, par exemple des bactéries sporulées mésophiles voire psychrotrophes (*Bacillus cereus,Bacillus subtilis, etc.*)

- **l'Age des cellules / spores :**

Les cellules les plus thermoresistantes sont obtenues souvent en phase stationnaire de croissance. En ce qui concerne les spores, il est difficile de généraliser **(OTENG, 1984).**

- **Caractéristique du milieu de stérilisation :**

De plus, cette thermoresistance dépend du milieu dans lequel la pasteurisation est pratiquée. Certains caractères du milieu tels que le PH, la présence d'eau et d'inhibiteurs influencent considérablement la thermorésistance.

- **PH :**

Le pH est de loin le paramètre qui a la plus grande influence sur celle-ci, la résistance de la plupart des formes végétatives ou sporulées des microorganismes est maximale aux PH proches de la neutralité **(JEANTET *et al.* ,2006).**

Selon **ROUX (1994),** la thermorésistance décroît dans un milieu acide.

- **Présence d'eau :**

La thermorésistance des microorganismes varie selon qu'il s'agit d'un traitement humide ou d'un traitement thermique par air sec **(BOURGOIS *et al.*, 1988).**

La chaleur humide détruit les microorganismes en coagulant leur protéine. Ce procédé est plus rapide et plus efficace que celui de la chaleur sèche **(PELZARC *et al.*, 1982).**

- **L'effet d'inhibiteurs :**

La présence d'inhibiteurs comme les nitrites, les antibiotiques ou les agents chimiques de conservation aide à la destruction des microorganismes par la chaleur **(OTENG, 1984).**

4. Traitement thermique :

4.1. La pasteurisation :

Selon **FREDOT (2005),** la pasteurisation est un traitement thermique réalisé à des températures inférieures à 100°C.

Elle permet ainsi la destruction de la totalité des microorganismes thermosensibles à savoir :

- Les formes végétatives des microorganismes pathogènes ;
- Les microorganismes responsables de certaines altérations ;
- Les moisissures ;

- Les levures ;
- Les bactéries gram négatif ;

Certaines bactéries Gram (+) ne sont que partiellement détruites (*Streptococcus* et *Lactobacillus* du lait, par exemple).

Un autre but de ce traitement est la destruction des enzymes naturelles ou produites par les microorganismes**(POINTURIE et ADDA, 1969).**

- **Les différents types de pasteurisation :**

La pasteurisation tue les agents responsables de nombreuses maladies véhiculées par le lait (comme la salmonellose et la tuberculose) ainsi qu'une grande partie de la microflore naturelle. Notons que l'agent causal de la fièvre Q (*Coxeillaburnetii*) n'est pas nécessairement tué par la pasteurisation HTST **(SINGLETON, 1999).**

1°/ Pasteurisation basse continue :

Le produit est porté pendant au moins 30 minutes à 60 ou 65,5°C. Pour le lait, le barème de pasteurisation (température et temps de chauffage) avait été calculé pour assurer la destruction des *Mycobacteriumbovis***(LECLERC *et al.*, 1976).** Cette pasteurisation est pratiquement abandonnée **(FANICA, 2008).**

2°/ Pasteurisation rapide à haute température dite HTST :(high température short time)

Le barème retenu pour le lait est de 71 à 73 °C durant au moins 15 secondes **(LECLERC, 1976).** Actuellement, de grandes quantités de lait sont soumises à une flach – pasteurisation. **(PRESCOTT *et al.* , 2003).**

Selon **JEANTET *et al.* (2007),** elle est pratiquée sur les laits de mauvaise qualité.

Le lait est porté presque instantanément à 75-80°C ou 90°C avant d'être refroidi brusquement **(LECLERC *et al.*, 1976),** afin d'éviter le développement de la flore thermorésistante et l'apparition de défaut de goûts **(HUGUES et GUIDICELLI,1993).**

On a aussi constaté que la pasteurisation menée dans certaines conditions pouvait produire dans la crème un effet protecteur vis-à-vis de l'oxydation ultérieure de la matière grasse **(POINTURIE et ADDA, 1969).**

La pasteurisation appliquée à certains produits a transformé la qualité d'aliments comme le beurre sur le marché,oùon rencontre deux variétés : fermier et pasteurisé. Le premier s'altère facilement et peut supporter des bactéries pathogènes. Le second se différencie par l'emploi de lait ou de crème pasteurisée **(LECLERC *et al.*, 1976).**

Toute fois, pour éviter le développement de bactéries thermorésistantes, la conservation du lait doit s'effectuer au froid à plus 6°C au maximum **(CORINNE, 1989).**

4.2. Stérilisation :

La stérilisation est définie comme le procédé par lequel on obtient la destruction ou l'éradication totale des germes microbiens saprophytes et pathogènes, qu'ils soient sous leur forme végétative ou sporulée **(TEBIBEL *et al.*, 2008).**

La stérilisation du lait, au préalable homogénéisé, est obtenue par deux méthodes différentes : simple et U.H.T :

- Dans le cas de la stérilisation simple, les bouteilles de lait hermétiques passent dans une stérilisation en continue ou elles sont chauffées pendant 15 min à 115°C. Le lait ainsi traité porte la mention << lait stérilisé >>.
- Dans le cas de la stérilisation U.H.T. (ultra haute température), les températures sont de l'ordre de 135°C, pendant 10 à 15 s, ou 140°C à 150°C pendant 1 à 3 s. Le lait est ensuite refroidi **(CORINNE, 1989).**

La stérilisation est obtenue par divers procédés incluant le feu, « la chaleur humide » (vapeur), « la chaleur sèche » **(JEROME *et al.*, 2004).** Bien que la chaleur sèche soit moins efficace que la chaleur humide.

les spores de *Clostriduimbotulinum*sont tuées en 5 minutes à 121°C par la chaleur humide, mais seulement après 2 heures à 160°C par la chaleur sèche **(PRESCOTT *et al.* , 2003).**

5. La flore thermorésistante retrouvée dans le lait :

Un certain nombre de bactéries sont capables de résister aux traitements thermiques usuels utilisés dans le but d'assainir ou de conserver le lait. Elles sont dites thermorésistantes. Leur développement ultérieur peut altérer les produits et parfois, être dangereux pour la santé. On distingue :

- **La flore thermorésistante totale,** définie comme la flore résiduelle après un traitement à 63°C pendant 30 minutes ou un traitement équivalent tel que la pasteurisation HTST (72°C pendant 15 secondes).
- **La flore moyennement thermorésistante,** qui n'est pas détruite par chauffage à 75°C pendant 12 secondes.
- **La flore fortement thermorésistante,** qui n'est pas détruite par chauffage à 85°C pendant 10 minutes. Elle comprend notamment les spores bactériennes, qui nécessitent des températures supérieures à 100°C **(F.A.O, 1995).**

5.1. La flore thermorésistante retrouvée dans lait cru destiné à la pasteurisation :

Les germes et les espèces les plus fréquemment rencontrés sont :

- Les bactéries à Gram positif asporogénes telles que *Micrococcusluteus, Streptococcus thermophilus, Enterococcusfaecalis, Microbactèriumlacticum, Corenybactèrium ;*
- Les bactéries à Gram positif sporulés tels *Bacillus* et *Clostriduim,* qui résistent à des températures plus élevées **(BONNEFOY, 2002).**

6. Origine de la flore thermorésistante :

La flore thermorésistante est notamment apportée dans le lait par le sol, les ensilages, les fèces et les résidus, l'insuffisance de nettoyage, de désinfection des matériels en contact avec le lait **(F.A.O, 1995).**

On doit redouter l'apparition des cellules thermorésistantes par accoutumance, elles se développent surtout dans les appareils laissés dans un état de propreté insuffisante. En laiterie et dans les autres industries, les pasteurisateurs doivent être l'objet de nettoyages soigneux et de désinfection à la fin de chaque période de travail **(LECLERC *et al.* ,1976).**

Selon **BARBER *et al.* , (1981),** les thermorésistants sont généralement des microcoques ou microbactéries qui contaminent le lait à la ferme dans les installations et les appareils mal nettoyés et mal désinfectés.

De même les bactéries thermorésistantes qui se multiplient peu dans le lait cru mais survivent à la pasteurisation, sont des bons indicateurs d'une contamination par le matériel de la traite **(MARTINET et HOUDEBINE, 1993).**

Chapitre IV

Généralités sur les Antibiotiques

1. Définitions

1.1. Antibiotiques

La définition des antibiotiques a connu une évolution dans le temps ainsi :

– Waksman (1943) a défini les antibiotiques comme " toutes substances chimiques produites par les micro-organismes capables d'inhiber le développement et détruire les bactéries et d'autres micro-organismes" **(BERGOGNE-BEREZIN et DELLAMONICA, 1999), (MILHAUD *et al*, 1982).**

– **Turpin et Velu (1957)** ont quant à eux défini les antibiotiques comme " tout composant chimique élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio thérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des virus, des microorganismes et de certains êtres pluricellulaires**" (MILHAUD *et al*, 1982).**

Les antibiotiques se définissent actuellement comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles (d'origine biologique) capables d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire **(HELALI, 1999).** Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme **(MERAD et MERAD, 2001).**

Les sources principales des antibiotiques sont les champignons, mais aussi les bactéries. Il existe également des antibiotiques entièrement synthétiques **(GUILLEMOT et *al*, 2006), (MERAD et MERAD, 2001), (YALA *et al*, 2001)**.

Exemples selon Yala (2001) :

– La pénicilline est produite par un champignon "Penicillium notatum "
– Le chloramphénicol est un antibiotique de synthèse chimique.
– D'après le même auteur les antibiotiques sont aussi définis par :
– Activité antibactérienne (spectre d'activité)
– Toxicité sélective (mode d'action)
– Bonne absorption et diffusion dans l'organisme '(pharmacocinétique)

1.2 Résidus d'antibiotique

Les résidus sont définis comme toute substance pharmacologiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après administration des médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux et susceptibles de nuire à la santé humaine (**Laurentie et sanders, 2002**)

2. Les causes de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques

Le traitement des mammites représente la principale cause de contamination du lait par les antibiotiques **(SRAIRI *et al.* ,2004)** , plusieurs causes peuvent être incriminées :

2.1. Les erreurs commises par l'éleveur

Nombreuses sont les fautes commises par les éleveurs pouvant engendrer la contamination du lait par les résidus d'antibiotiques, selon **ABIDI (2004) :**

- ✓ Un mélange accidentel du lait d'une vache traitée avec celui des autres vaches,
- ✓ Une traite par erreur, d'une vache tarie, récemment traitée par des antibiotiques,
- ✓ Une désinfection défectueuse de la machine à traire,
- ✓ Une non - vérification de l'ancien traitement administré aux vaches, en lactation, récemment achetées,
- ✓ Un mélange accidentel de l'aliment médicamenteux avec la ration des vaches.

2.2. La mauvaise utilisation du médicament

Selon ces auteurs **(GEDILAGHINE, 2005 ; ABIDI, 2004 ; BROUILLET, 1994)** cela s'articule autour du :

- ✓ Non-respect de la dose car l'augmentation de cette dernière est à l'origine de l'allongement de la durée d'élimination du médicament,
- ✓ Non –respect de la voix d'administration,
- ✓ Utilisation d'une préparation destinée à une vache tarie dans le traitement d'une vache en lactation.

2.3. Le non-respect du délai d'attente

Il peut-être et selon les auteurs près-cités du à :

- ✓ Acte volontaire de la part de l'éleveur par ignorance des risques réels de ce geste, Défaut de communication entre vétérinaires et éleveurs.

2.4. La contamination par le matériel de traite

Par défaut de nettoyage après la traite des vaches traitées **(BROUILLET, 1994 ; ABIDI, 2004)**

2.5. L'absence d'identification des animaux (BROUILLET, 1994 ; ABIDI, 2004 ; GEDILAGHINE, 2005).

2.6. La mauvaise hygiène lors de la traite

Le lait peut être contaminé par les souillures fécales contenant des antibiotiques excrétés par voie digestive **(LABIE, 1981)**

2.7. L'adjonction volontaire d'antibiotiques dans le lait

Après la traite dans le but d'inhiber le développement de la microflore et d'améliorer la qualité bactériologique du produit **(LABIE, 1981).**

3. Méthodes de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait.

3.1 Principe des méthodes de dépistage. L'utilisation des tests de détection des inhibiteurs est très ancienne, les premiers tests ont été utilisés quelques années après l'apparition des antibiotiques **(BROUILLET, 2002).** Deux types de tests sont utilisés pour rechercher les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale :

- Des tests microbiologiques qui utilisent le principe de la croissance bactérienne ; ce sont des méthodes bactériennes encore appelées méthodes d'inhibition, ces tests microbiologiques présentent l'intérêt d'avoir un spectre large, néanmoins ils présentent des inconvénients tels que le manque de sensibilité à certains antibiotiques et l'éventuelle sensibilité à des inhibiteurs naturels (**FABRE et *al*., 2002).**
- Des tests qui utilisent des méthodes physico-chimiques, tel que la chromatographie en couche mince, la chromatographie en phase liquide ou la chromatographie en phase gazeuse, des techniques enzymatiques ou des techniques immunologiques **(FERGUSSON *et al*., 2002).**

Selon (**FABRE *et al*., 2002) :**

- Les recherches microbiologiques ont été améliorées en sélectionnant des souches et en modifiant les milieux de culture pour augmenter la sensibilité à certains antibiotiques et élargir le spectre,
- De nouvelles méthodes (immuno-enzymatique, …) ont été mises au point pour diminuer le le temps d'analyse.

L'évolution des méthodes de détection des antibiotiques est reportée dans le tableau suivant :

☞ ***Tableau 21.*** **Evolution des méthodes de détection des antibiotiques dans le temps (ROMNEE, 2007)**

Année	Evénement
1929	Découverte de la pénicilline G
1935	Découverte de la sulfanilamide
1938	Utilisation de la sulfanilamide pour le traitement des mammites
1948	Utilisation de la pénicilline G pour le traitement des mammites
1951	Utilisation des antibiotiques comme additifs dans l'alimentation animale
1952	Développement d'un test de recherche des inhibiteurs dans le lait : Bacillus
1961	subtilis
1978	Développement du Br Test utilisant Geobacillus stearothermophilus var.
1975	calidolactis
1981	Développement du Delvotest P® utilisant Geobacillus stearothermophilus var.
1990	calidolactis
1991	Développement du Penzym® – test enzymatique

3.2. Objectifs des tests de dépistage

Le dépistage est effectué au moyen d'une méthode d'analyse donnant une indication forte de la présence d'un résidu dans un échantillon (Aghuin-Rogister, 2005). Les tests de dépistage ont pour objectifs de détecter un maximum de substances différentes à un seuil proche ou inférieur à la limite maximale des résidus. Ils doivent aussi permettre de faire rapidement des analyses sur un grand nombre d'échantillons, afin de ne retenir qu'un faible nombre suspect à soumettre à une méthode de confirmation.

3.3. Description des méthodes de dépistage

Beaucoup de pays disposent d'une législation sur les résidus de médicaments dans le lait et de méthode d'analyse pour la recherche des résidus antibiotiques. Des méthodes rapides ont été mises au point par des industriels pharmaceutiques ou chimiques qui reposent sur des tests immunologiques qui exploitent les réactions antigène-anticorps dont la liaison est révélée par des réactions soit immuno-enzymatiques (Snap®, Penzym®), soit Immuno-

chromatographiques (Béta-Star®, Delvotest®- X-Press, Rosa®, Charm®), ou encore radio-immunologiques. Rapidité et facilité de réalisation, sensibilité et spécificité élevées vis-à-vis des principauxantibiotiques nuisibles à la transformation du lait (bétalactamines, tétracyclines), font de ces tests des outils de choix pour les industriels. Mis à part le test Charm® qui, malgré le fait que ce soit le test actuel le plus sensible et le plus spécifique donnant des indications quantitatives, de par son prix reste plutôt réservé aux industriels, ces tests rapides d'inhibiteurs sont accessibles aux vétérinaires praticiens et se résument en :

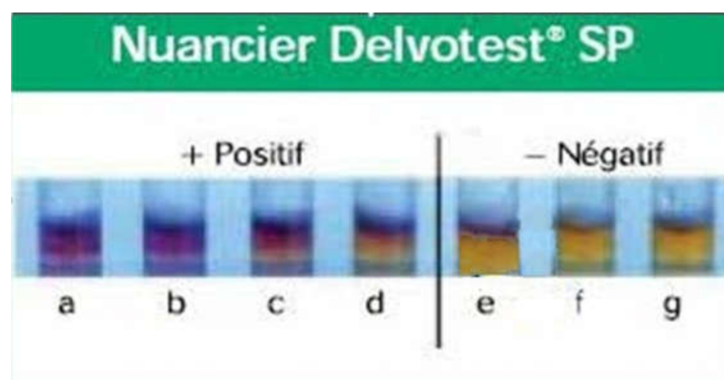
1. Delvotest :

C'est un test très utilisé par les laiteries, ce test n'est pas spécifique et offre un large spectre de détection et une bonne sensibilité vis-à-vis des pénicillines (qui représentent le plus grand risque technologique). Le principal inconvénient de ce test est sa durée d'incubation de 2 h30 à **3 (BROUILLET, 2002), (VERHNES et VANDAELE, 2002)**

- *Delvotest SP*

Le Delvotest SP (et ses variantes Delvotest Mini ou Delvotest SP 5PACK) est un test biologique simple, très utilisé, standardisé, fondé sur la multiplication du germe : *Bacillus stéarothermophilus* var. calidolactis **(ZINEDINE et *al.*, 2007)**

C'est un test de sélection microbiologique à large spectre, permettant de déceler les résidus de substances anti-infectieuses dans le lait à des niveaux proches des limites maximales des résidus. Bien que le test détecte certaines antibiotiques qu'on trouve dans le lait, comme la pénicilline G la cloxaciline, la sulfaméthazine, la sulfadiazine, la céphalexine, la gentamycine, il est moins sensible pour d'autres comme la tétracycline et l'oxytétracycline (**LE BRETON et *al.*, 2007) .**



☞***Figure 07*. Expression des résultats de Delvotest® SP (REYBROECK, 2004)**

2. Le Delvo X Press

C'est un test rapide, immuno-enzymatique, qui détecte les résidus de bêta-lactamines présents dans le lait en 10 min. Ce test est fondé sur le dosage de l'excès d'un réactif spécifique et l'interprétation est effectuée par une mesure colorimétrique. **(BROUILLET, 2002).**

La lecture s'effectue avec un lecteur de densité optique (spectrophotomètre) **(ABIDI, 2004), (BROUILLET, 2002), (MORETAIN, 2000).**

3. Copan Milk Test

Le Copan milk est un test microbiologique, très proche de Delvotest, il utilise aussi *Bacillus steatermophilus var. calidolactis,* nécessite la même durée et la mêmetempérature d'incubation, le même réactif coloré mais il est prêt à l'emploi, son milieu
gélosé contient tous les ingrédients pour la réaction **(BROUILLET, 2002).**

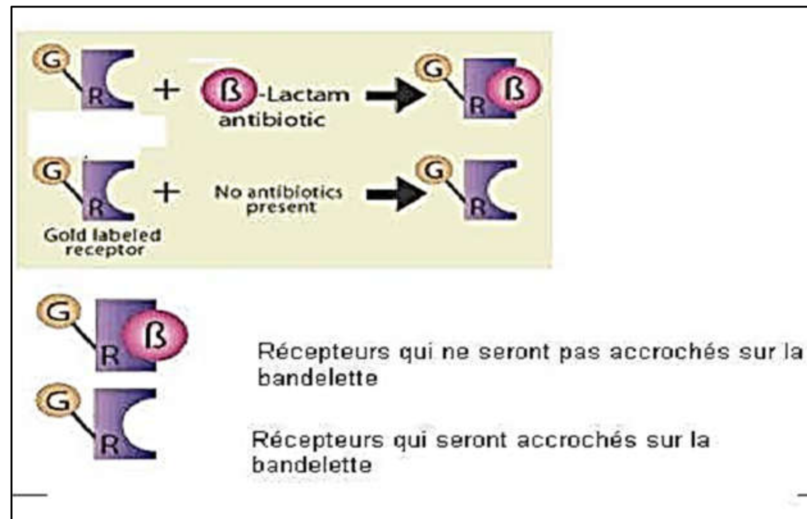
Le Copan milk test présente un haut degré de sensibilité permettant ainsi la détection d'un large spectre d'antibiotiques (**REYBROECK, 2004).**

4. Valio T101

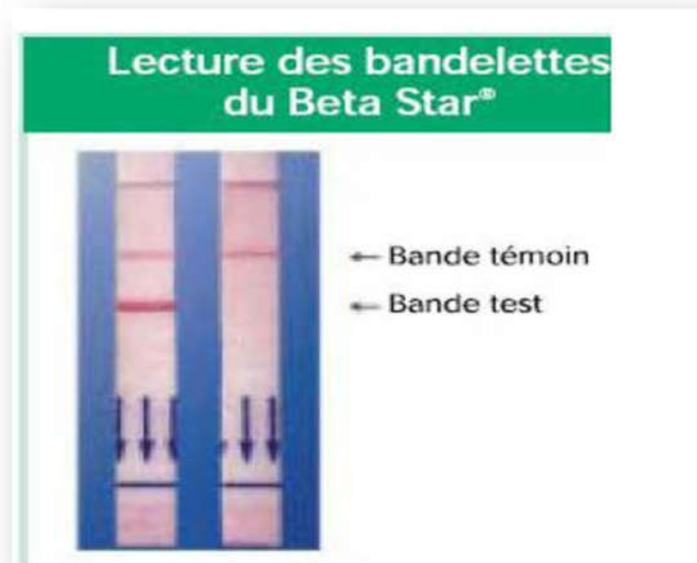
Il présente le même principe que Delvotest mais utilise *Streptococcus thermophilus*(bactérie mise en œuvre dans la fabrication du yaourt et dans les tests d'inhibition de l'ancienne méthode officielle). Le révélateur d'acidification est aussi un réactif coloré. La sensibilité du test avait l'avantage d'être très voisine de celle de Delvotest **(BROUILLET, 2002), (MORETAIN, 2000)** mais il est plus long dans son opération, ce qui en limite davantage l'intérêt (**VERHNES et VANDAELE, 2002**).

5 .ß-Star

C'est un test rapide, simple d'emploi, du type Recepteur Assay. Le test est basé sur L'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or **(SCIPPO et MAGHUIN-ROGISTER, 2006); (REYBROECK, 2004); (BROUILLET, 2002**; **(MAGHUIN-ROGISTER *et al*, 2001) ; (MORETAIN, 2000).** Il permet la détection rapide, dans le lait, des résidus de pénicillines et de céphalosporines (**Moretain, 2000).**



☞***Figure 08***. Principe de réaction du ß- STAR (Anonyme. b, 2005)



☞ ***Figure 09***. Interprétation des résultats du ß-STAR (**Reybroeck, 2004)**

6. Penzym Test

Le Penzym est un test qualitatif, facile d'emploi, très rapide et spécifique des antibiotiques de la famille des bétalactames et se base sur une réaction enzymatique et colorimétrique **(Brouillet, 1994).**

7 .Snap Test

Il utilise une méthode immuno-enzymatique, les récepteurs peuvent se lier soit à l'antibiotique contenu dans le lait, soit aux antibiotiques fixés à la surface du test.

Chaque kit individuel prêt à l'emploi comprend une pipette pour le prélèvement du lait, un tube à essai contenant une pastille réactif (récepteur), un dispositif snap« encliquetable » et un bloc chauffant pouvant contenir de deux à six tests. **(REYBROECK, 2004),**

8. Charm Test

Il permet la détection de nombreux antibiotiques (pénicilline, tétracycline, macrolides, sulfamides, aminoglycodides…) par une réaction d'immuno compétition entre la molécule à rechercher et une molécule marquée au C14 ou H3 (**BROUILLET, 2002), (MORETAIN, 2000).**

C'est un test de compétition mesuré par radioactivité (propriétés de scintillement du lait contaminé) qui permet une identification précise et un dosage, qui peut être calé sur les seuils des limites maximales des résidus. Il nécessite un investissement important mais permet d'identifier l'inhibiteur présent (**BROUILLET,2002), (VERHNES,2002).**

9. Test Elisa

Il est rapide (de quelques minutes à 20 minutes) mais onéreux. Il est spécifique pour une famille d'antibiotiques (souvent les ß lactamines) et sensible pour cette dernière,sa limite de détection est souvent inférieure à la limite maximale des **résidus (Abidi,2004), (Verhnes, 2002)**

10. Le système de détection basé sur des microbilles Magnétiques

Pour détecter la présence d'antibiotiques dans le lait, des laboratoires européens ont mis au point un système basé sur des microbilles magnétiques sur lesquelles sont greffés des anticorps. Rapide et précis, il peut servir à détecter tous types decontaminants dans les liquides. (**CAILLAT, 2007).**

Les différents tests de dépistage présentent des seuils de sensibilités variés qui sont représentés dans le tableau 21

☞ **Tableau 22**. Sensibilité des différents tests de dépistages aux antibiotiques (Brouillet, 2002) (les valeurs sont exprimées en µg/ml)

	LMR Europe	Delvo SP	Delvo X Press	Penzym	Charm II	Snap	Copan milk	ß-STAR
Pénicilline	4	2 - 2,5	2-4	4-9	3	2-3	2	2-4
Amoxicilline	4	4	4-8			6	2	2-4
Ampicilline	4	5	4-6	3-7	2	6-10	2	2-4
Cloxacilline	30	15-25	30-40	30-100	30	30	15	5-10
Tétracycline	100	100-600	Nd	Nd	30	30	250-500	Nd
Néomycine	500	100-2000	Nd	Nd	10	Nd	1000	Nd
Céfalonium	32	5-25	4	10-20	*	*	*	7,5
Céftiofur	100	4-8	*	*	*	6	50	2
Céfalrxine	20	40-100	25-50	20-25	*	*	*	*
Spiramycine	200	200	Nd	Nd	50	Nd	>800	Nd
Tylosine	50	10-100	Nd	Nd	50	Nd	50	Nd

Nd : non détecté, * : donnée non connue.

La législation algérienne La législation algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel (le ministère de l'économie, le ministère de l'agriculture et le ministère de la santé et de la population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation **(ANONYME, 1993),** mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir des résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement des limites maximales de résidus.

La fixation des LMR restent très diverses, par exemple la FDA a fixé des niveaux d'inquiétudes pour les résidus de l'oxytétracycline à 30 ng/mL.

Une étude en 2007 a publié qu'aux États-Unis, la limite maximale de résidu de tétracycline devrait être de 2 ppm dans les muscles et 6 ppm dans le foie **(MOATS, 2000 cité par Ziadi,**

2010). Or, la limite maximale de tétracycline serait de 100 ng/mL dans le lait et la viande pour les pays de Union Européenne **(CHRIS *et al.* 1999 cité par ZIADI, 2010).**

Matériel et Méthodes

Objectifs de l'étude

Le suivi des évolutions des structures de production dans la filière laitière est un enjeu majeur et cette étude est une mise à jour qui nous permet de dresser une image sur nos laiteries. Produisent-elles vraiment une boisson saine ?

La réponse à cette question comme à d'autres nous a fortement motivé pour le choix de ce thème.

Le lait est une denrée largement consommée.Est-il indispensable à la santé des enfants et des adultes comme l'assure l'industrie laitière et ses amis pédiatres ?

Parlons de santé sommes-nous à l'abri d'une consommation passive des résidus d'antibiotiques ?

Etant donné le manque de règlementation du contrôle des résidus d'antibiotiques dans le lait. On peut et sans doute être exposé à un danger inévitable.

De ce fait nous nous sommes proposés de déterminer les caractères physico-chimiques de certains échantillons de lait cru et pasteurisé de l'unité GIPLAIT de Tiaret.

Procéder à la recherche des germes pouvant contaminer le lait mise en évidence de la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait et déterminer le rôle des acteurs de la filière laitière que ce soit l'éleveur ou le vétérinaire.

Ce travail aboutit à des recommandations concernant les pratiques de production et de fabrication du lait.

1. Echantillonnage

1.1 Lieu de prélèvement

L'étude a été menée durant la période s'étalant de décembre 2013 à décembre 2015, au niveau de la laiterie «Giplait » de Tiaret, sise à zone industrielle ZAAROURA ROUTE DE FRENDA. La laiterie en question est conventionnée avec 22 collecteurs et 308 éleveurs laitiers. Elle réceptionne une quantité de lait estimée à environ 12000 de litre de lait cru par jour, voire plus ou moins selon les divers facteurs qui conditionnent la production au niveau des exploitations entre autres la saison l'alimentation etc.

A partir de ce lait cru est fabriquée du lait pasteurisé conditionné objet de notre étude, du petit lait, du lait caillé, du beurre qui sont commercialisés et du yaourt destiné à l'armée populaire nationale de l'ouest.

1.2 Les prélèvements

Les méthodes de prélèvement se réfèrent à la norme AFNOR NFV 04150.

Entre la préparation de la suspension, ses dilutions et la mise en culture, il ne doit pas s'écouler plus de 45 minutes (la norme **AFNOR NFV 08010 DE MARS 1996**).

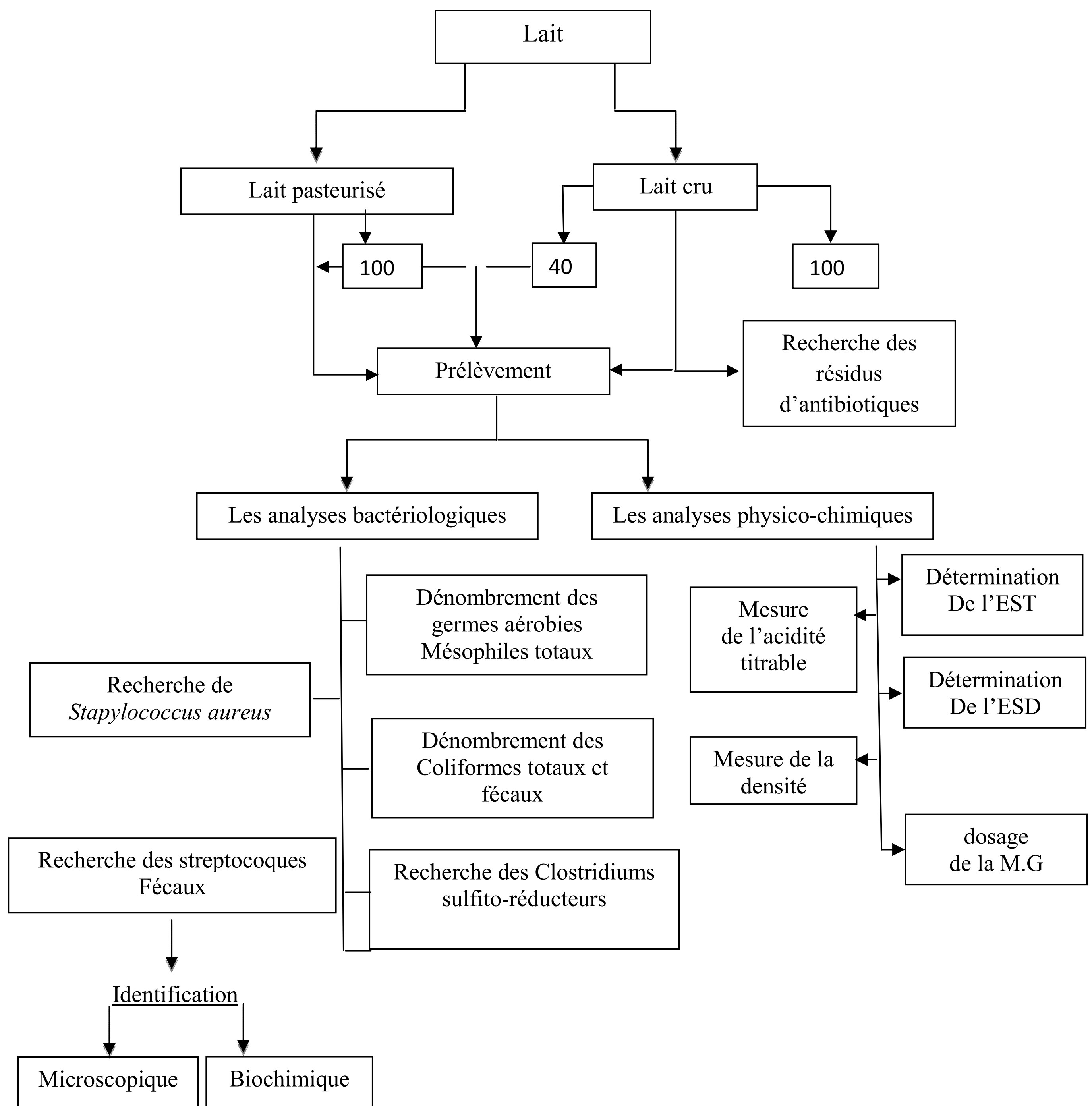
Au total 240 échantillons de lait sont prélevés : 140 échantillons de lait cru et 100 échantillons de lait pasteurisé conditionné.

Les prélèvements pour analyse microbiologique et la recherche des résidus d'antibiotiques sont au nombre de un pour chaque échantillon. Ils sont réalisés le matin (après réception de la quantité total du lait).

Signalons que chacun des échantillons est l'unité représentative de la quantité de lait de mélange.

Concernant le lait pasteurisé conditionné à chaque fin de fabrication et après conditionnement un sachet d'un litre est pris conservé au froid dans une glacière, sur lequel on effectuait des analyses physico-chimiques au niveau du laboratoire de l'unité et des analyses microbiologiques au niveau du laboratoire de l'institut vétérinaire. Les règles rigoureuses d'asepsie sont respectées lors desmanipulations.

Le protocole expérimental de l'étude se résume sur la figure 10 ci-contre :



☞ ***Figure 10.*** Protocol général des analyses effectuées

1.2.1 Techniques de prélèvement

Nous procédons préalablement au flambage du robinet situé à la partie inférieure de la cuve de stockage, nous éliminons les premiers jets et nous remplissons au 2/3 de sa capacité un flacon stérile. Les prélèvements sont mis au froid, jusqu'au moment de l'analyse avec un délai n'excédant pas plus de 8 heures **(Guiraud, 2003).**

Les prélèvements pour analyses physico-chimiques se font à l'aide d'une louche qu'on plonge à l'intérieure du tank par son ouverture supérieure.

2. Analyses physico-chimiques

2.1 Détermination de l'acidité titrable

L'acidité a été mesurée par la méthode de titration avec une solution d'hydroxyde de sodium (N/9) en ajoutant de la phénolphtaléine à 1%, comme indicateur par changement de couleur (rose pale).L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D) ou 1 °D représente 0.1 g d'acide lactique dans un litre de lait (le mode opératoire est donné en annexe n° 1). **(Mathieu, 1998).**

2.2 Détermination de la densité

La densité a été calculée, avec un thermo-lactodensimètre de type Dornic, suivant le ratio entre les poids de volumes égaux de lait et d'eau à 20°C **(Mathieu, 1998)**.

La densité est ramenée à 20°C par la formule suivante :

Densité corrigée= densité lue +0.2 (température du lait à – 20°C) (Mathieu, 1998).

2.3 Détermination de l'extrait sec total (EST) et l'extrait sec dégraissé(ESD)

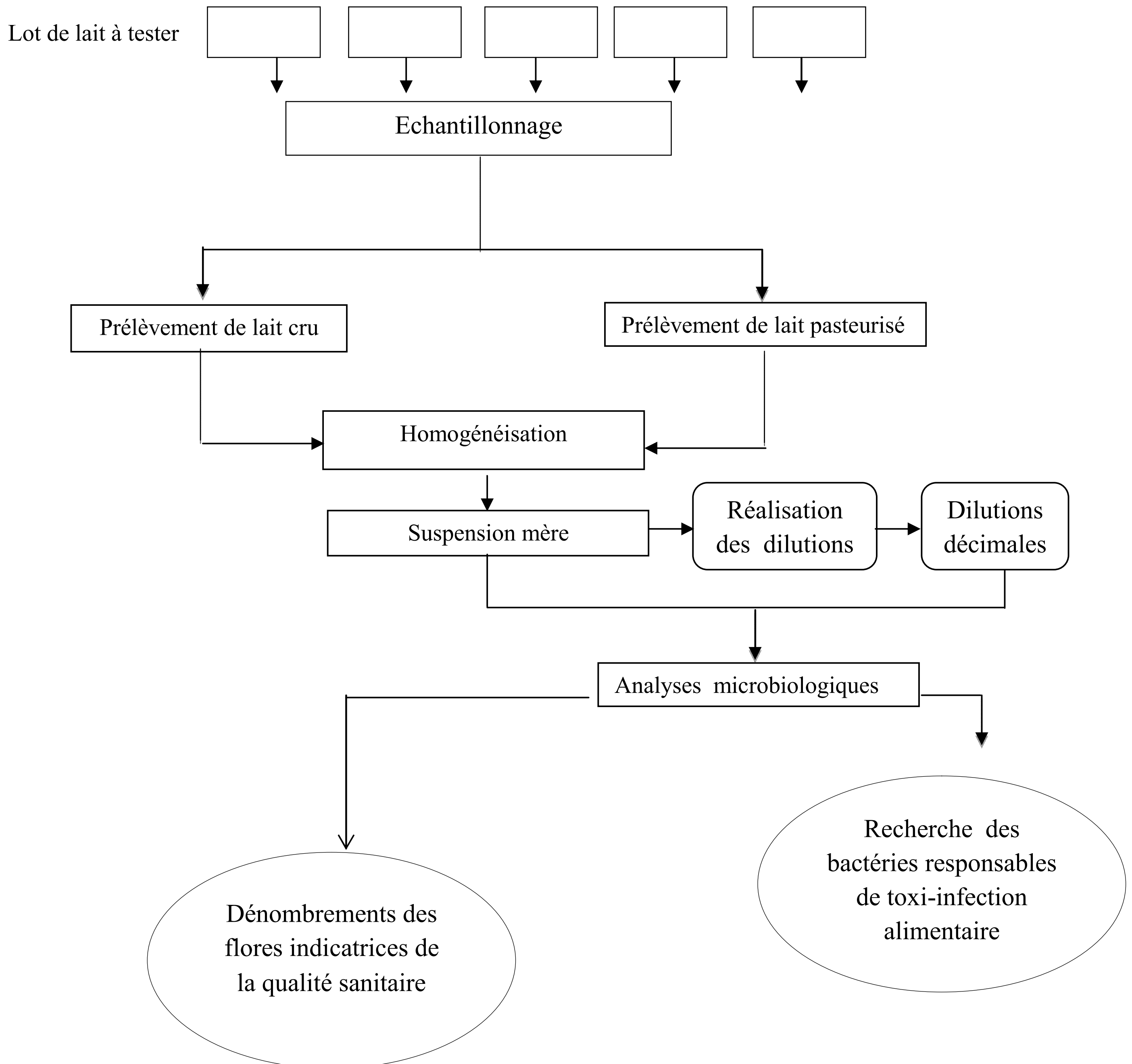
Exprimés en pourcentage du poids ; les résidus ont été pesés suite à l'opération d'évaporation **(JORA, 2013).**

2.4 Détermination de la matière grasse

Le dosage de la matière grasse a été réalisé avec un butyromètre, suivant la méthode décrite par Abiazar (2007). Cette méthode acido-butyrométrique est basée sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et par ajout d'une faible quantité d'alcool iso amylique, la matière graissese sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux. (Le mode opératoire est donné en annexe n° 2).

3. Analyses microbiologiques

Le protocole pour analyse microbiologique est illustré sur la figure 11 ci-dessus :



☞ ***Figure 11.*** Protocole pour analyse microbiologique

Les analyses sont réalisées dans les conditions aseptiques en effectuant au préalable une série de dilutions allant jusque 10^{-4} ; qui se fait dans des tubes contenant chacun 9 ml de liquide diluant stérile TSE (Tryptone-sel-eau). (Voir figure 12 annexe n°3).

Les analyses bactériologiques sont effectuées selon le journal officiel de la république Algérienne n°35 DU 27 MAI 1998.

3.1 Dénombrement des microorganismes aérobies à 30°C :

Bons indicateurs de contamination, ils sont dénombrés sur gélose PCA incubés 24 h à 30°C.

Ils apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes.

(Voir annexe n° 4).

3.2 Dénombrement des coliformes:

Les coliformes sont recherchés sur gélose VRBL (difco) incubés 24 heures à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux **(Audigier *et al* 1980).** (Voir annexe n° 5).

3.3 Dénombrement des *Staphylococcus aureus:*

La recherche de *Staphylococcus. aureus* a été réalisée suivant la méthode de **(Guiraud, 1998)** et l'énumération sur Baird-Parker agar (Difco) **(JORA, 1998)** (voir annexe n°6).

-Recherche du caractère pathogène

L'examen microscopique d'un frottis préparé à partir des colonies isolées et coloré selon Gram montre des cocci qui se présentent en grappe de raisin.

Le diagnostic est complémenté par une épreuve de la catalase (catalase +) et une recherche de la coagulase staphylococcique ; pour cela le plasma de lapin été choisi pour son excellente spécificité vis à vis de cette enzyme et de son aptitude à produire rapidement un coagulum.

Recherche de la catalase :

La catalase permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Sa recherche consiste à mettre en contact sur une lame la colonie avec de l'eau oxygénée à 10 volumes. Une effervescence due à un dégagement gazeux traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase.

- Recherche de la coagulase

Elle consiste à additionner 0,5 ml de plasma de lapin à 0,5ml de la culture bactérienne. Incuber à 37°C pendant 24 heures. La présence de la coagulase est mise en évidence par la formation d'un coagulum.

Nous avons compléter notre étude par la recherche de bactéries thermorésistantes non sporulées du genre streptococcus (streptocoques fécaux) et de bactéries sporulées du genre Clostridium (clostridiumsulfito-réducteur) pour le lait pasteurisé.

3.4 Dénombrement des *streptocoques fécaux :*

Ils sont déterminés et détectés sur gélose VF et le milieu Rothe and Litsky respectivement **(Joffin et Joffin, 1999)**.

(Le mode opératoire est porté en annexe n°7).

3.5 Dénombrement des clostridiums sulfito-réducteurs SRC:

Les SRC ont été mis en évidence suivant la méthode de Catsaras and Bourgeois(1980). (Voir annexe n°8).

4. Recherche des résidus d'antibiotique

Selon l'arrêté interministériel du 18 Aout 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de commerce :

- Le lait ne doit pas contenir notamment des résidus antiseptiques antibiotiques et pesticides (art 6).

– Absence de précision des LMR (Limite maximale de résidus) tolérables dans le lait.

– Absence de précision des techniques de contrôle des résidus d'antibiotiques dans la filière lait.

-Absence de précision des points de contrôle des résidus d'antibiotiques dans la chaine de la filière lait.

Néanmoins au cours de notre étude et au niveau de l'unité GIPLAIT leur recherche se fait en utilisant un test simple d'emploi ; consiste à effectuer une méthode qualitative et immuno- colorimétrique de type ″Récepteur Assay pour la recherche rapide, de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des ß lactames (pénicillines, céphalosporines,…); il s'agit du test :ß- STAR.

4.1 Le ß- STAR.

Le test est basé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or .Au cours de la première étape d'incubation, les antibiotiques ßlactames, s'ils sont présents dans l'échantillon de lait, se lient au récepteur .Pendant la deuxième étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique qui présente deux bandes de capture.

– La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas liés d'antibiotiques.

– La seconde sert de référence.

4.1.1Principe

0.2 ml de lait est aspiré à l'aide d'une pipette et déposé dans le flacon contenant le lyophilisat (récepteur spécifique lié à des particules d'or), le flacon est refermé au moyen du bouchon en caoutchouc puis retourné et secoué afin de dissoudre complètement le lyophilisat.

Le flacon est mis à incuber pendant 3 minutes à 47°C+ou- 1°C dans l'incubateur, la bandelette est alors placée dans le flacon qui est laissé à incuber pendant 2 minutes supplémentaires, le résultat est lu sur la bandelette.

4.1.2 Mode opératoire

Au début du travail faire chauffer l'incubateur et attendre sa stabilisation. 15 minutes avant utilisation il faut retirer les réactifs (flacon et boites de tigettes) du réfrigérateur.

On prélève un échantillon de lait dans le tank bien homogène (si c'est nécessaire, lancer manuellement l'agitateur).

On fait sortir un flacon du coffret en s'assurant que tout le lyophilisat se trouve au fond du flacon.

☞ *Remarque :* pour faire descendre le lyophilisat au fond du flacon, frapper délicatement le flacon sur une surface solide.

0.2ml de lait est prélevé et déposé dans le flacon contenant le récepteur après lui avoir enlevé sa capsule et son bouchon. On remet le bouchon et on agite doucement le flacon renversé afin de dissoudre tout le lyophilisat. On met le flacon dans l'incubateur stabilisé à la température de 47.5°C ±1°C. Au bout de 3 minutes d'incubation avec les mains propres et sèches on ouvre le flacon blanc ; on fait sortir une tigette et l'identifier avec le numéro du producteur et la date d'échantillonnage ; on la dépose dans le flacon ; on Veille à ce que les flèches de la tigette soient orientées vers le bas dans le flacon. On poursuit l'incubation à 47.5°C ± 1°C pendant 2 minutes puis on retire la tigette.

4.1.3 Interprétation

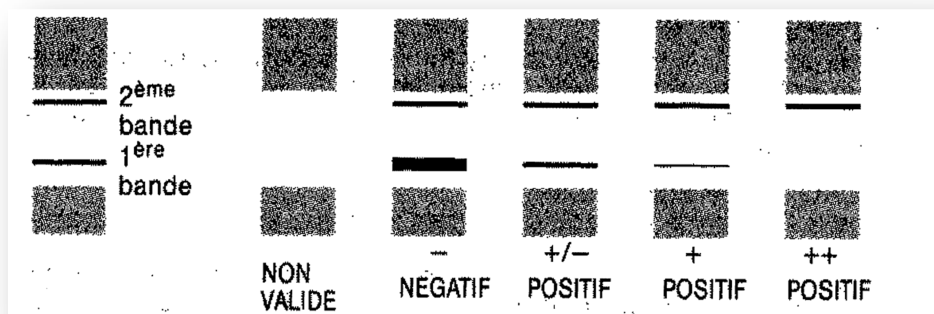
On interprète immédiatement et visuellement le résultat comme suit :

- Aucune bande rouge n'apparait, le test est non valide, on recommence l'analyse.
- La première bande a une intensité de différents degrés qui peut être :

– Supérieure à celle de la bande réference →l'échantillon ne contient pas ou peu de résidus de substances inhibitrices de la famille beta lactame →le résultat est négatif (Catégorie– sur le schéma de la figure n° 12).

– Egale ou inférieure à celle de la bande réference→l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille béta lactame →le résultat est positif(Catégorie +/ - ou + sur le schéma)

– Très faible ou est absente→l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille béta lactame →le résultat est positif(Catégorie ++ sur le schéma).



☞ ***Figure. 13.*** Interprétation du résultat du test ß- STAR 25

4.1.4 Remarques et précautions

– Toujours changer l'embout de la pipette entre deux échantillons.

– Température d'incubation

– La température d'incubation idéale est 47.5°C ± 1°C.

– Au dessous de 46°C, les réactions sont ralenties.

– Au dessus de 49°C, les réactifs peuvent subir des dégradations.

– Dans les deux cas les performances du test sont modifiées et sa réponse devient incorrecte.

– Le volume de lait : le volume de lait nécessaire pour effectuer un test ß- STAR 25 est de 0.2ml. La seringue à ressort fournie dans la boite ß- STAR 25 est réglée pour délivrer 0.2ml. (voir la photo du kit en annexe n°13°)

Précautions

Lors de la mise en œuvre du test ß- STAR 25 il convient d'avoir les mains propres et sèches pour éviter toute contamination des réactifs.

Avant son ouverture, le flacon blanc devra être resté au moins dix minutes à la température normale

– Le résultat d'un test de recherche des résidus d'antibiotiques pouvant être modifié par la présence accidentelle de molécules actives dans l'environnement, il est recommandé d'éviter la mise en œuvre du ß- STAR par toute personne subissant un traitement à base de ß lactames.

4.2 Technique du DELVOTEST.

A cet effet ; cent échantillons de lait cru prélevés du lait de mélange du tank ont étés analysés par le DELVOTEST (SP 5 PACK).

4.2.1 Principe

Lors de l'incubation à 64°C les spores du Bacillus. Stéarothermophilus germent et produisent l'acide lactique responsable du virage d'un indicateur de pH du pourpre (violet) vers le jaune. En présence de substances inhibitrices la couleur du milieu gélosé reste pourpre après la période d'incubation.

Seulement c'est une méthode qualitative mais ne permettant pas une identification des antibiotiques et c'est une méthode assez longue (2.5 à 3h) par opposition au test ß- STAR (7 mn).En plus sa sensibilité est marquée pour les bétalactamines, essentiellement la pénicilline mais de sensibilité faible pour d'autres antibiotiques.

4.2.2 Mode opératoire :

L'utilisation de ce test comme dans toute manipulation microbiologique exige en premier lieu les conditions aseptiques, tel que le lavage minutieux des mains et bien les sécher.

On sépare les ampoules nécessaires (selon le nombre de prélèvements testés) délicatement à l'aide de ciseaux pour ne pas endommager la feuille d'aluminium des ampoules adjacentes et pour éviter le décollement du milieu gélosé. On étiquette les ampoules pour une identification juste, à l'aide de la pointe de la seringue on perce la feuille d'aluminium.

On prélève 0.1 ml de lait de l'échantillon à tester et on le verse dans l'ampoule à la surface de l'agar et on laisse diffuser. On procède à la fermeture de l'ampoule avec un ruban adhésif. Incuber toutes les ampoules à 64°C pendant 2 h 30 mn à 3 heures.

Si le lait ne contient aucune substance inhibitrice, l'indicateur de Ph vire du violet au jaune en raison de la production d'acide par le germe .Mais en présence de substance inhibitrice, la couleur du milieu gélosé reste pourpre (violet) car ces dernières empêchent la croissance du germe et par conséquent la production d'acide lactique (Romnée, 2009).

4.2.3 Interprétation

Après les 3 heures procéder à la lecture des résultats dans les 2/3 inférieurs de l'agar ; qui se traduit par un virement de couleur de l'indicateur de Ph .Comme suit :

- Une couleur jaune se traduit par l'absence de substances antibactériennes à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection.
- Une coloration jaune –violette traduit la présence de substances inhibitrices dans l'échantillon de lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection.
- Une coloration violette traduit bien la présence de substances inhibitrices dans l'échantillon du lait analysé à une concentration égale ou supérieure au seuil de détection.

5. Analyses statistiques.

Tous les résultats sont exprimés en moyenne et écart-type. La fréquence est calculée en pourcentage. L'analyse est réalisée à l'aide du logiciel R.

Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de lait analysés

Les résultats retrouvés pour le lait cru et le lait pasteurisé sont portés aux tableaux 23 et 25 respectivement.

1.1 Caractéristiques physico-chimiques du lait cru

☞**Tableau 23.** Caractéristiques physico-chimiques des échantillons analysés de lait cru

Paramètres								Nombre total d'échantillon	Moyenne	Standard JORA
AT (°D)	17° (n=08)		17.5° (n=07)		18° (n=25)			n=40	17.71°	18°
Densité	1.0298 (n=08)	1.0307 (n=04)	1.0308 (n=04)	1.0302 (n=20)	1.0301(n=4)	--		n=40	1.030	1.030 - 1.034
MG g/l	22 (n=11)	27 (n=06)	30 (n=06)	33 (n=08)	35 (09)	-- --		n=40	29.07	30 – 45
EST g/l	127 (n=18)	129 (n=12)	130 (n=10)	--	--	--		n=40	128.35	125 – 130
ESD g/l	91.5 (n=19)	90.5 (n=11)	109.5 (n=07)	89.5 (n=03)	--			n=40	94.22	90 – 95

AT= Acidité Titrable; °= degré Dornic; EST= Extrait Sec Total; ESD= Extrait Sec Dégraissé; n = nombre d'échantillon.

Les résultats des critères physico-chimiques du lait cru analysés rapportés par le tableau 23 montrent :

Une acidité titrable légèrement inférieure à la norme pour 15 échantillons soit 37.5% ; en revanche 25 échantillons soit 62.5% sont conformes à la norme. Des valeurs de densité conformes à la norme standard pour tous les échantillons testés ; dont la moyenne de ces valeurs est de1.030. Le taux de matière grasse est inférieur à la norme dans 17 échantillons soit 42.5% mais il est conforme à la norme dans 23 échantillons soit 57.5%. Nous notons une valeur moyenne de l'extrait sec total est de 128.35 est dans l'intervalle des normes (125-130) avancées par le JORA, et dépend des facteurs climatiques et alimentaires. D'après ces résultats trente échantillons soit 75% des valeurs de l'extrait sec dégraissé sont conformes à la norme (90-95) mais 7 échantillons soit 17.5% ont une valeur de 109.5 ; supérieure à la norme et 3 échantillons soit 7.5% ont une valeur de 89.5 inférieure à la norme.

Les résultats des paramètres physico-chimiques du lait cru du tableau N°23 sont représentés graphiquement par la figure N° 14 (a ; b ; c ; d et e en annexe 9).

Les valeurs minimales ; moyennes et maximales avec leurs écart-type pour les deux types de lait analysés (cru et pasteurisé) sont portés respectivement aux tableaux 24 et 26

☞***Tableau 24.***Intervalle de valeurs des critères physico-chimiques du lait cru

Critères	**Minimum**	**Moyenne**	**Maximum**	**Ecart type**
AT (°D)	17	17,.71	18	0,41
Densité	1,0298	1,030	1,0308	0,00
MG g/l	22	29,07	35	5,03
EST g/l	127	128v35	130	1,29
ESD g/l	89.5	94,22	109,5	7,15

1.2 Caractéristiques physico-chimiques du lait pasteurisé conditionné

☞**Tableau 25.** Caractéristiques physico-chimiques des échantillons analysés de lait pasteurisé conditionné

<table>
<tr><td colspan="8">Paramètres</td><td>Nombre total d'échantillon</td><td>Moyenne</td><td>Standard (JORA 2004)</td></tr>
<tr><td>AT (°D)</td><td colspan="2">17° (n=40)</td><td colspan="2">18° (n=50)</td><td colspan="2">20° (n=10)</td><td>-- --</td><td>n=100</td><td>17.8°</td><td>16° - 19°</td></tr>
<tr><td>Densité</td><td>1.029 (n=10)</td><td>1.030 (n=20)</td><td>1.031 (n=20)</td><td>1.031 (n=30)</td><td>1.031 (n=10)</td><td>1.031 (n=10)</td><td>-- --</td><td>n=100</td><td>1.030</td><td>1.027 - 1.035</td></tr>
<tr><td>MG g/l</td><td>24 (n=20)</td><td>27 (n=30)</td><td>28 (n=30)</td><td>30 (n=20)</td><td>-- --</td><td>-- --</td><td>-- --</td><td>n=100</td><td>27.3</td><td>30 – 45</td></tr>
<tr><td>EST g/l</td><td>109.5 (n=10)</td><td>115 (n=10)</td><td>116.5 (n=10)</td><td>118 (n=20)</td><td>118.5 (n=30)</td><td>119.5 (n=10)</td><td>120 (n=10)</td><td>n=100</td><td>117.2</td><td>125 –130</td></tr>
<tr><td>ESD g/l</td><td>89.5 (n=20)</td><td>90 (n=10)</td><td>90.5 (n=20)</td><td>91 (n=10)</td><td>91.5 (n=10)</td><td>92 (n=20)</td><td>109.5 (n=10)</td><td>n=100</td><td>92.5</td><td>90 – 95</td></tr>
<tr><td colspan="11">AT= Acidité Titrable; °= degré Dornic; EST= Extrait Sec Total; ESD= Extrait Sec Dégraissé;
n = nombre d'échantillon.</td></tr>
</table>

Selon les résultats des critères physico-chimiques du lait pasteurisé conditionné analysés rapportés par le tableau 25, on constate une acidité titrable conforme à la norme pour 90 échantillons, soit 90% ; en revanche 10 échantillons soit 10% sont non conformes à la norme, alors que les valeurs de densité sont conformes à la norme standard pour tous les échantillons testés ; dont la moyenne de ces valeurs est de1.030.

Le taux de matière grasse est inférieur à la norme dans 80 échantillons soit 80% mais il est conforme à la norme dans 20 échantillons, soit 20%.

Une valeur moyenne de l'extrait sec total est de 117.2 est inférieure à l'intervalle des normes (125-130) avancées par le JORA.

Vingt échantillons soit 20% des valeurs de l'extrait sec dégraissé sont inférieurs à la norme (90-95), 10échantillons, soit 10% ont une valeur de 109.5 ; supérieure à la norme et 70 échantillons soit, 70% sont conformes à la norme.

☞**Tableau 26.**Intervalle de valeurs des critères physico-chimiques du lait pasteurisé conditionné

Critères	Minimum	Moyenne	Maximum	Ecart type
AT (°D)	17	17.8	20	0.88
Densité	1.029	1.030	1.031	0.00
MG g/l	24	27.3	30	1.96
EST g/l	109.5	117.2	120	2.91
ESD g/l	89.5	92.5	109.5	5.73

Il en ressort et d'après les tableaux 24 et 26 que les échantillons de lait cru analysés présentent en moyenne une acidité de 17,71°D leur taux de matière grasse moyen est de 29.07 g/l pour un extrait sec total de 128,35 g/l (tableau 24).
Quant aux laits pasteurisés s'ils présentent à peu près la même acidité et le même extrait sec dégraissé moyen que les échantillons de lait cru, ils sont plus pauvres en matière grasse (27,3 contre 29.07g/l) et en extrait sec total (117,2 contre 128,35 g/l/) (tableau 26).Néanmoins ces tableaux permettent également d'observer une nette ressemblance des caractéristiques physico-chimiques des laits crus avec celles des laits pasteurisés.

Il est à noter que la valeur moyenne de l'acidité titrable des laits crus étudiés 17.71 °D est proche de la valeur standard 18°D. Selon **(Alais, 1984)** l'acidité dépend de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions. Comme elle dépend selon **(Mathieu, 1998)** des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et de son activité métabolique. Il en est de même pour la densité ; sa valeur moyenne 1.030 rapportée par le (tableau 24) et est conforme à la norme standard (1.030-1.034).

La densité dépend de la teneur en matière sèche, en matière grasse, et des disponibilités alimentaires.

Comme il est de règle de mesurer la densité du lait à la réception ; seulement le laitier (l'éleveur) peut pratiquer simultanément le mouillage et l'écrémage de ce fait les deux opérations pratiquées à la fois exercent des effets inverses sur la densité par conséquent elle

ne sera pas modifiée de sorte que le lait écrémé et mouillé accuse une densité normale, alors nos résultats peuvent ne pas être fiables ; ce qui incite à faire le dosage de la matière grasse.

Des teneurs faibles en matière grasse retrouvés dans 42.5% des échantillons testés de lait cru sont certainement dues aux soucis des producteurs de récupérer le maximum de beurre.

La teneur moyenne en matière grasse des échantillons testés de lait cru est de 29.07g/l est inférieure à la norme standard (30-45 g/l) mais cette teneur est en accord avec l'intervalle de 28.5 à 32.5 avancé par L'AFNOR.

En plu 57.5% des échantillons restants sont conformes à la norme.

La variabilité de la teneur en matière grasse dépend de facteurs tels que les conditions climatiques, le stade de lactation et l'alimentation.

Pour les échantillons de lait pasteurisé ; ils sont discutés suivant la référence nationale **(JORA, 2004).**

1.2.1. Acidité titrable :

Le plus grand nombre des laits contrôlés (90%) ont présenté une acidité qui correspond au standard **(JORA 2004),** à l'exception de 10 échantillons; lesquels ont montré une légère augmentation. Cette hausse de l'acidité peut être due à la présence d'un nombre élevé de microorganismes dans le lait et/ou à une prolifération des bactéries existantes ; le métabolisme bactérien est responsable d'une production importante d'acide lactique, d'un coté, et les mauvaises conditions hygiéniques durant l'opération de traite, de l'autre **(Mathieu 1998).** Selon **Schmidt *et al* (1996),** l'acidité titrable atteint son plus haut niveau sur des laits conservés pendant de longues durées. De la même manière, l'augmentation des taux de protéines du lait a le même effet.

Les résultats des paramètres physico-chimiques du lait pasteurisé conditionné du tableau n°25 sont représentés graphiquement par la figure N°15 (f, g, h, i et j , en annexe 10)

1.2.2. Densité et matière grasse du lait :

La densité du lait, est en concordance avec le standard national. Concernant la composition en matière grasse, 80% des résultats se rangent entre 24 et 28g/l, ce qui est inferieures aux valeurs de références (Tableau 23) ; c'est la principale composante dont les taux sont les plus variables du lait **(Vignola 2002).** Ces taux bas peuvent être dus à une extraction exagérée de beurre à partir de lait brute.

1.2.3. Extrait sec total :

Les taux de l'extrait sec total (EST) de la totalité des échantillons analysés sont inférieurs au standard. La matière sèche représente tous les composants d'un lait à l'exception de l'eau et de la matière grasse dissoute. La valeur basse en EST peut être expliquée par le mouillage ou dilution (ajout d'eau) du lait.

1.2.4. Extrait sec dégraissé :

Pour l'extrait sec dégraissée (ESD), selon **Veisseyre (1975**) un litre de lait doit contenir 90 à 95 g de l'extrait sec; 90% de nos résultats s'accordent avec la référence officielle, à l'exception de 10 valeurs ; avec des seuils élevés (109,5g/l). Cette augmentation serait due aux facteurs environnementaux et alimentaires.

2 Résultats Statistiques

L'étude statistique des paramètres physico-chimiques analysés pour les deux types de lait :
cru et pasteurisé conditionné a révélé pour :

a / Le lait cru.

1/ L'acidité titrable :

L'objectif est de comparer la moyenne de notre échantillon (acidité titrable) avec une moyenne de référence égale à 18.

Les résultats du test de comparaison ont montré qu'il y a une différence significative au seuil de 5% entre la moyenne de notre échantillon et la valeur standard 18.

2/ La densité :

Nous avons testé si la moyenne de l'échantillon (densité) est comprise dans l'intervalle 1.030-1,034 ?

Nous avons procéder à un test pour les deux extrêmes de l'intervalle. Est-ce que la moyenne dépasse 1.034 sinon est -ce qu'elle est supérieure à 1,030 ?

Le test a montré que la moyenne de la densité au seuil de 5% est significativement comprise entre 1.030- 1.034.

3/ La matière grasse :

Pour la matière grasse le test est fait de la même manière que pour la densité pour l'intervalle de référence 30-45.

Ce test a révélé que la moyenne de l'échantillon de la matière grasse est significativement au seuil de 5% hors de l'intervalle est nettement inférieur à 30.

4/ L'EST :

Pour l'échantillon EST la comparaison de la moyenne est faite pour l'intervalle de référence 125-130.

Les résultats des tests ont montré que la moyenne de l'EST appartient à l'intervalle 125-130 avec une probabilité d'erreur nettement inférieure à 0.05.

5/ L'ESD :

De la même manière que précédemment la moyenne de l'ESD est comparée à l'intervalle 90-95.Les tests révèlent que la moyenne de notre échantillon ESD est inclue dans l'intervalle standard 90-95.

b / Le lait conditionné pasteurisé.

Etant donné que notre analyse s'est basée sur le même test (comparaison de moyennes).

Les résultats pour le lait conditionné pasteurisé sont comme suit :

1/ <u>L'acidité titrable :</u>

L'intervalle de référence est 16-19.

Les résultats des tests ont montré que la moyenne de l'acidité titrable de notre échantillon est comprise dans l'intervalle.

2/ <u>La densité</u> :

L'intervalle étant 1,027-1,035. Les mêmes tests ont prouvé que la moyenne de notre échantillon est comprise entre 1.027-1,035.

3/ <u>La matière grasse :</u>

L'intervalle de référence étant 30-45.Les résultats du test ont montré qu'au seuil de 5% la moyenne de notre échantillon est hors de l'intervalle et est nettement inférieure à 30.

4/ <u>L'EST :</u>

L'intervalle de référence est 125-130.Les résultats du test ont montré que la moyenne de l'EST est inférieure à 125 par conséquent elle est hors des normes.

5/ <u>L'ESD :</u>

L'intervalle de référence étant 90-95.Les résultats du test de comparaison des moyennes de notre échantillon et des limites de l'intervalle ont montré que la moyenne de l'échantillon ESD est conforme au standard (Appartient à l'intervalle).

☞ *Remarque*

Ces résultats sont interprétés selon les figures n° 14 et 15 retrouvées en annexe n°09 et 10.

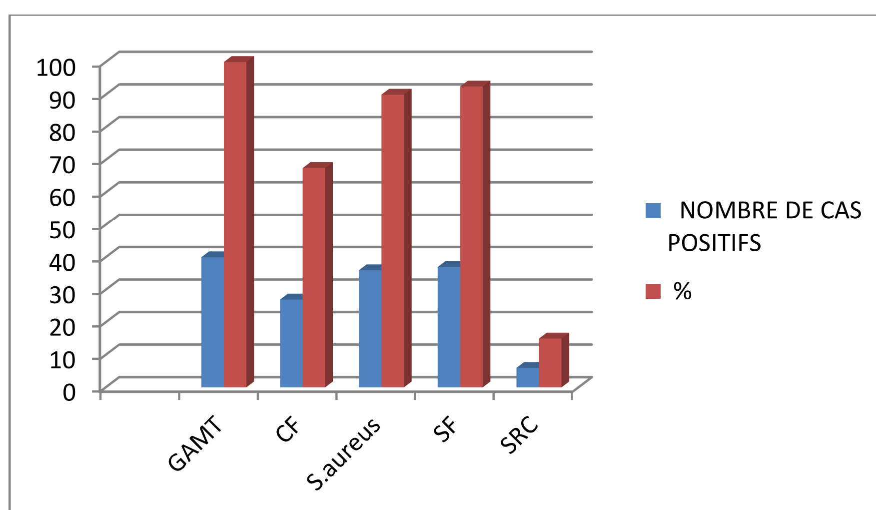
3-Résultats des analyses microbiologiques des échantillons de lait analysés

3.1 Critères microbiologiques et fréquences microbiennes des échantillons analysés de lait cru.

Tous les groupes microbiens recherchés dans les quarante échantillons et leurs fréquences microbiennes sont rapportés par les tableaux 27 et (28 en annexe n°11) et sont illustrés par la figure n° 16.

☞ **Tableau 27.**Critères hygiéniques des échantillons analysés de lait cru.

Echantillons totaux (N=40)	**GAMT**	**Coliformes fécaux**	**Streptocoques fécaux**	***Staphylococcus aureus***	***Clostridium sulfito-ré-ducteurs***
	Nombre de colonies (UFC/ml)				
4	4.2×10^{6}	3.8×10^{3}	3.5×10^{1}	Absent	Absent
3	5.3×10^{6}	1.5×10^{3}	Absent	1.1×10^{3}	Présent
13	6.9×10^{5}	Absent	1.7×10^{1}	6.6×10^{3}	Absent
11	3.6×10^{5}	1.3×10^{3}	1.4×10^{2}	1.6×10^{3}	Absent
6	3.5×10^{5}	2.2×10^{3}	8.9×10^{2}	7.0×10^{2}	Absent
3	7.4×10^{5}	1.7×10^{3}	3.0×10^{2}	1.0×10^{4}	Présent
Standards	10^{5}-10^{6}	10^{3} - 10^{4}	Abs/0.1ml	Absent	50-5×10^{2}



☞ ***Figure 16.*** Représentation des fréquences de contaminations microbiennes des échantillons de lait cru

– Les résultats des dénombrements mentionnés au tableau 27 révèlent que tous les groupes microbiens recherchés connaissent un développement important ainsi à titre d'exemple le niveau de la flore mésophile totale (GAMT) se situe entre $3,5\times10^5$ et $5,3\times10^6$**(UFC/ml)**très élevé par rapport aux normes (10^5 à10^6 **UFC/ml**) ; il en est de même pour le niveau des coliformes fécaux qui se situe entre1.3×10^3et 3.8×10^3 **(UFC/ml)** ,il dépasse de loin les normes standards (10^3 à10^4**UFC/ml**).

– Alors que les Staphylocoques et les Streptocoques qui devraient être absents on remarque leur présence dans tous les échantillons à l'exception de quelques uns.

– Notons aussi la présence des *Clostridium sulfito-réducteurs* dans six (6) échantillons sur les quarante (40) testés soit 15% des cas.

On peut en déduire ; et selon **(Javier, M 1959)** même s'il est traité et manipulé dans les meilleures conditions d'hygiène, le lait cru contient toujours des bactéries provenant de l'homme manipulateur, de l'animal porteur de germes au niveau du trayon des mamelles et de la peau, des installations et du matériel de traite et enfin du milieu environnant des vaches laitières.

– Et selon **Lavoisier (1989),** la contamination du lait rien que par la peau des mamelles peut atteindre 5.10^4**UFC/ml**. Par conséquent, les germes ou la flore mésophile aérobie totale existe toujours dans le lait cru quelque soient les conditions de sa production. Nos résultats ont atteint un maximum de 5.3×10^6mais demeurent inférieurs par rapport à ceux retrouvés au Maroc et cités par **Benbrahim , A (1976)** ; **Riahi, N (1981) et Benachir,M(1985),** les valeurs sont comprises entre 2.5×10^6et 14×10^7, alors qu'au Pakistan et selon **Teufel *et al*(1992)** les charges microbiennes sont de l'ordre de 3.6×10^8.

Au Bangladesh **Sourav, K *et al* (2014)** rapportent une charge microbienne variable et aussi élevée située entre 1.3×10^7et 5.2×10^8.

Selon l'hypothèse de **Coorevits, A *et al* (2008)** ; les différentes manières d'alimenter et les différentes stratégies de logement des vaches peuvent influencer la qualité microbienne du lait.

En plus l'eau utilisée pour le rinçage de la machine et l'équipement de traite peut également être responsable de la présence d'une charge microbienne élevée notamment de la présence de bactéries pathogènes dans le lait cru. **Bramley.A *et al*, (1990).**

– Selon la figure 16 nos échantillons testés sont contaminés à 100% par les germes aérobies totaux(GAMT) à des taux non conformes aux normes nationales standards. Une contamination de 81,2% des laits par les (GAMT) a été rapportée à TIARET par **Ghazi.*et al*(2011)** .et par **Baaziz.D (2005)** de l'ordre de 91,78 %.

– La recherche des microorganismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles, ils témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport.

Les teneurs en coliformes fécaux trouvées varient de 1.3×10^3à 3.8×10^3UFC/ml.Elles sont inférieures à celles mentionnées par **Hamama et El Mouktafi (1990)** de l'ordre de 1.8×10^5UFC/ml mais à une fréquence de 67,5% supérieure à celles rapportées par Ghazi *et al,* (2010) et qui est de 18,06% et est de 17,80% rapportée par **Baaziz, D. (2005)**. Selon l'étude menée par **Benachir, M(1985)**, il rapporte des abondances de 8.6×10^3UFC/ml.

Ceci peut être expliqué par un mauvais état des vaches laitières, une négligence de simples gestes d'hygiène tels un lavage minutieux du pis avant et après la traite.

– Pour les Staphylocoques leur taux varie de 7.0×10^2à 1.0×10^4UFC/ml inférieur à celui rapporté par **Lilian, P *et al*, (2011)**.

Ils sont à une fréquence de 90% dans nos résultats donc proche à celle rapportée par **Jayurao et Henning, (2001)** qui est de 93,3% et est de 95% selon **Baazize. D (2005)** mais légèrement inférieure à celle rapportée par **Ghazi, et *al*, (2011)** qui citent une fréquence de 81,93%. Ce résultat alarmant peut s'expliquer selon (**Ashnafi, 1996, Godefay et Molla, 2000)** par un manque d'hygiène des tanks de stockage de l'unité. Ce qui peut entrainer un sérieux problème sanitaire car les Staphylocoques sont responsables d'intoxication alimentaire.

La contamination du lait peut survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou par l'environnement .On retrouve S. aureus dans de petites lésions cutanées et dans les manchons des machines à traire. La colonisation des trayons peut entrainer l'infection de la mamelle. **(Brisabois, *et al* 1997)**.

Dans le lait de mélange, et selon **(Asperger, 1994)** on dénombre en moyenne 10^2à10^3S. aureus /ml.

S.aureus est disséminé sur la peau et les mains de façon temporaire ou permanente. L'homme est considéré comme le vecteur principal de contamination au cours des manipulations intervenant tout au long de la chaine alimentaire. Cependant dans le lait cru et les fromages au lait cru, les souches de biotype humain restent minoritaires par rapport aux souches de biotype bovin**. (DeBuyser et Lapeyre, 1994).**

Toutefois, il faut soulever que les souches de S .aureus ne sont pas toutes toxinogènes. D'après les nombreuses enquêtes réalisées le pourcentage de souches toxinogènes serait de 30% à 60% chez les souches ovines et caprines, contre seulement 4% à 10% chez les souches bovines. **(DeBuyser et Lapeyre, 1994).**

En revanche, les Staphylocoques représentent la bactérie la plus souvent mise en cause dans les toxi-infections alimentaires dues à des produits laitiers en France comme au Royaume uni. **(DeBuyser et *al* 1997,Maguire *et al*1991).**

Selon la Directive européenne 92/46/CEE du juin 1992, les Staphylocoques sont présentés comme des germes témoins de défaut d'hygiène, mais il faut rappeler que dans le cas des produits au lait cru, la principale source de contamination est la mammite bovine **(Asperger, 1994).**

– Le taux des Streptocoques fécaux est variable et ils sont à une concentration de 92.5% supérieure à celle citée par **Ghazi. *et al*, (2010)** qui est de 80.64% toutefois proche à celle citée par **Baazize.D,(2005)** qui rapporte une fréquence de 91.09 %

Le taux de Streptocoques est en rapport avec l'état de santé des vaches, les conditions hygiéniques de la traite et d'éventuelles contaminations au cours du dénombrement.

La présence de Streptocoques fécaux reflète une contamination de l'environnement comme a été rapporté par **Dunsmore et Bates(1982).**

– La charge bactérienne en clostridium sulfito réducteurs est moins importante leur fréquence est de 15%, elle est par moment nulle.

– On peut en conclure que les laits crus de mélange testés présentent une qualité microbiologique relativement mauvaise et sont non acceptables du point de vue hygiénique. La présence de Staphylocoques et de Clostridiums sulfito-réducteurs indique une mauvaise santé des vaches et une mauvaise hygiène de la traite.

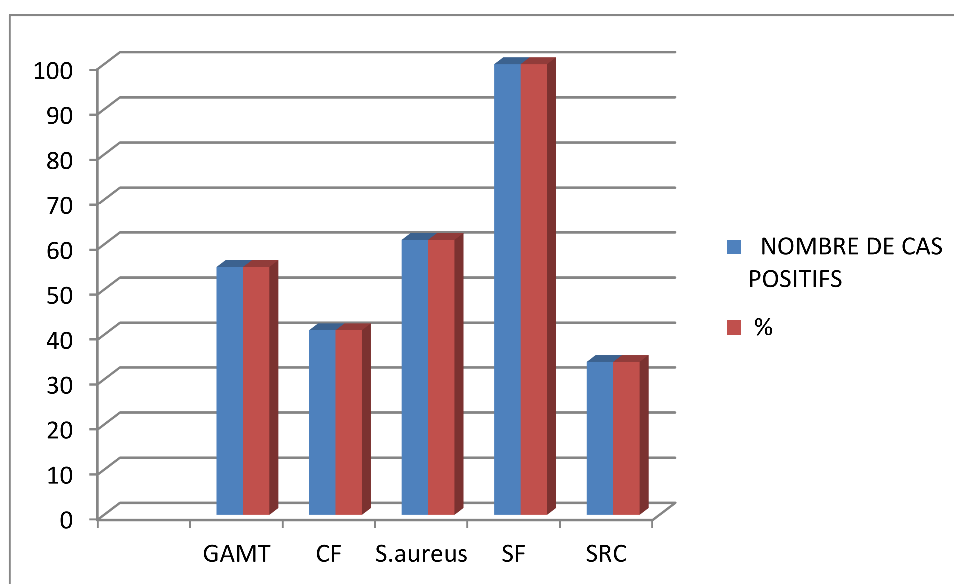
L'étude révèle l'obtention de lait de mauvaise qualité bactériologique pour la production de produits biologiques au lait cru de bonne qualité : lait caillé et yaourts.

3.2 Critères microbiologiques et fréquences microbiennes des échantillons analysés de lait pasteurisé.

Les résultats des analyses bactériologiques et de leurs fréquences microbiennes sont présentés par les tableaux 29 et (30 en annexe n° 12) et ils sont discutés suivant les références officielles **(JORA 1998).**

☞**Tableau 29.** Critères hygiéniques des échantillons de lait pasteurisé conditionné

Echantillons totaux (N=100)	GAMT	Coliformes Totaux	Coliformes fécaux	*Staphylococcus aureus*	Clostridium sulfito-réducteurs	*Streptocoques fécaux*
	Nombre de colonies (CFU/ml)					
12	1.4×10^6	10^5	1.4×10^4	Présent	Présent	150
12	1.2×10^5	2.1×10^4	1.6×10^3	Présent	Présent	120
10	1.5×10^5	10^4	Absent	Présent	Présent	120
12	2.1×10^5	1.8×10^4	Absent	Absent	Absent	210
08	1.6×10^4	3.1×10^3	4.1×10^2	Absent	Absent	1100
09	1.9×10^5	1.8×10^4	10^3	Présent	Absent	460
09	1.7×10^4	200	Absent	Présent	Absent	1100
09	2.6×10^4	1.6×10^2	Absent	Présent	Absent	240
13	1.3×10^4	1.3×10^2	Absent	Absent	Absent	1100
06	10^4	Absent	Absent	Absent	Absent	460
Standards	10^5 - 10^6	10^3	10^2	Absent	Absent	Absent/0.1ml



☞***Figure 17.*** Représentation des fréquences de contaminations microbiennes des échantillons de lait pasteurisé conditionné.

3.2.1. Flore mésophile totale :

Le contrôle de la qualité microbiologique des échantillons de laits pasteurisés est déterminé par le comptage des bactéries mésophiles aérobies ; indicatrices du niveau d'éventuelle contamination **(Joffin et Joffin 1999).** La flore coliforme qui témoigne d'une contamination fécale. Les germes pathogènes dont la présence n'est pas tolérable tels que les clostridies qui sont à l'origine de toxi-infection alimentaire ou des germes courants mais dangereux s'ils sont présents en grande quantité tel que *Staphylococcus aureus* **(Maurice, 1996).**

En général, la recherche des GAMT permet d'apprécier le degré de pollution microbienne et la qualité hygiénique globale des produits alimentaires **(Veisseyre, 1975; Bourgeois *et al*, 1996).**

Les résultats retrouvés au tableau 29 et illustrés par la figure 17 révèlent des valeurs variables situées entre10^4 et 1.4×10^6ufc/ml qui dépassent de loin les normes fixées par le **(JORA, 1993)** et qui sont limitées à 10^5 -10^6ufc/ml.

Le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectués les manipulations à savoir l'état de l'animal et particulièrement de la mamelle, du niveau de contamination (étable, local de traite), des trayons ainsi que du matériel de récolte du lait (citernes) **(Stoll, 2002)**.

Le fait que le niveau de GAMT soit élevé, dans les 55% des échantillons, indique, probablement, que la pasteurisation n'était pas efficace. Ordinairement, une pasteurisation efficace devrait éliminer la majorité des bactéries pathogènes; cependant, un certain genre de bactéries peut résister à l'opération, il s'agit des thermorésistantes (Guiraud et Rosec, 2004).
Par ailleurs, une possible contamination du produit peut se produire post pasteurisation ; durant le processus de conditionnement du produit (mise en sac).

3.2.2. Coliformes totaux *:*

Les Coliformes restent les meilleurs indicateurs de la qualité sanitaire d'un lait **(Giraud et Rosec 2004).** Ainsi, lorsque leurs niveaux sont élevés, les Coliformes causent des empoisonnements alimentaires **(Joffin et Joffin 1999).**

Dans notre étude, 63% des laits testés présentent des niveaux élevés de Coliformes totaux. Cequi est en désagrément avec la législation (1998). Les 37% restants sont considérés commesatisfaisants.

Antérieurement, Dans la wilaya de Tiaret, **Aggad *et al* (2010)** ont de leur part évoqué des niveaux élevés de contaminations (31%) de lait pasteurisé; mais pas aussi élevés que ceux de notre étude. Egalement, d'autres auteurs **(Shaltout *et al* 2003;Kunda *et al* 2015)** ont

rapportés des résultats comparables (22% et 57%, en Jordan et Zambia, respectivement). Parcontre, **Kunda et *al* (2015)** relatent des niveaux très bas de Coliformes totaux (4.8%) dans du lait cru ; certainement, dues à une hygiène rigoureuse de la traite et durant la manipulation du produit.

La cause plausible serait une contamination du lait après le procédé de pasteurisation ; Durant la préparation du produit final (emballage) ; également, l'utilisation d'un matériel d'emballage d'une mauvaise qualité. De plus, il est fort probable que l'eau utilisée, soit polluée. Au fait, la présence de Coliformes fécaux suppose forcément une contamination fécale récente ; étant donné que ces germes vivent dans le milieu extérieur **(Douglas 2003)**.

Toutefois, selon **Afif *et al* (2007)**, l'existence de Coliformes n'indiquerait pas nécessairement une contamination fécale directe du lait, mais serait plus précisément un indicateur du manque d'hygiène lié à la traite et à la manipulation du produit.

3.2.3. Coliformes fécaux :

Les Coliformes fécaux sont présents dans 41% des échantillons de lait; alors que **Aggad et *al* (2010),** examinant le lait pasteurisé dans la même région trouvent seulement 2% de contaminations.

La découverte de ces pathogènes avec cette fréquence élevée parait-être en rapport avec plusieurs facteurs ; comme l'inefficacité de la pasteurisation, une insuffisance ou absence de l'hygiène du personnel, défaut ou insuffisance dans la stérilisation du matériel et des locaux et à la défaillance des conditions de stockage et de conservation.

De plus, il faut rappeler la capacité de certaines bactéries à résister au processus de pasteurisation; ces bactéries thermorésistantes peuvent raccourcir la durée de conservation (durée de vie) d'un lait pasteurisé **(TeGiffel, 1997).**Selon **Guiraud (1998),** leur présence avec un seuil élevé indique que l'hygiène générale est mauvaise.

3.2.4. *Staphylocoques aureus* :

Staphylococcus aureus est présent dans 61% des cas; ce qui est vraiment considérable. Au Maroc, **Srairi *et al* (2006)** découvrent 30% de contamination. Par contre, **Leite *et al* (2002)** ne découvrent aucun cas de contamination par *S aureus* dans le lait pasteurisé au Salvador.

La présence de *S aureus* dans le lait est responsable d'une toxi-infection alimentaire, c'est la cause la plus fréquente des empoisonnements alimentaires ; constituant un risque majeur pour la santé publique **(Kadariya *et al* 2014).** Ce problème sanitaire se produit en présence d'entérotoxines thermostables (résistantes à la chaleur) **(Larpent 1997),** ou lorsque le procédé de traitement thermique est inefficace; une pasteurisation défaillante ne peut éliminer tous les germes responsables d'empoisonnement alimentaire **(Jorgensen *et al* 2005;**

Oliver *et al* 2005; Fagundes et *al* 2010). Le lait pasteurisé est plus favorable à la croissance de *S.aureus* que le lait cru, car ce microorganisme est un mauvais compétiteur en présence d'autres flores bactériennes.Dans le lait cru, le nombre initial de *S.aureus* doit être égal ou supérieur à celui de la flore concomitante pour pouvoir se multiplier suffisamment et produire des entérotoxines. **(Minor, et Marthe,1976).**

Ainsi, selon (**Oliver et *al* (2005),** la recrudescence des cas de toxi-infections alimentaires dues à l'ingestion de lait pasteurisé et de produits dérivés, fait penser sérieusement que la pasteurisation ne devrait pas être la solution finale pour le contrôle du problème.

3.2.5. *Clostridium sulphito-réducteurs*:

Concernant les *Clostridies sulphito-réducteurs*, leur incidence est de 34%. Ces bactéries sont utilisées comme témoins lors des contrôles de la qualité hygiénique des produits alimentaires. Ainsi, leur présence dans un lait pasteurisé stipule l'inefficacité du procédé de pasteurisation ou bien une contamination ultérieure.

La majorité des bactéries thermorésistantes (thermoduriques) se développent croissent dans le lait réfrigéré, et sont en général des espèces gram-négatives psychotropes qui entrent principalement en tant que contaminants de post-pasteurisation **(Cousin 1982).** Cependant, enl'absence de bactéries psychotropes où bien lorsque un grand nombre de thermoduriques ontsurvécus à la pasteurisation; certaines thermoduriques en particuliers les psychotropes sporulés formant *Bacillus* sp peuvent croitre et provoquer la détérioration du lait (**Overcast et Atmaram 1974**).

3.2.6. *Streptocoques fécaux :*

Les *streptocoques fécaux* sont *de* potentiels agents de la contamination fécale; ils sont les plus utilisés en alternative ou additionnelle ment aux bactéries Coliformes pour indiquer une pollution fécale **(Sinton, *et al* 1993)**. On retrouve ces pathogènes dans tous les échantillons examinés; ce qui stipule que la contamination se produit à une large échelle ; avant et/ou durant le processus de fabrication et conditionnement.

Les *Streptocoques fécaux* sont susceptibles de provoquer des empoisonnements alimentaires **(Guiraud et Rosec 2004)**.

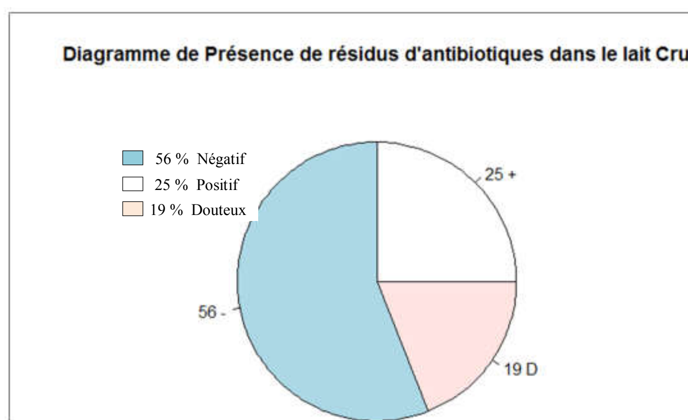
Enfin, en regard à la mauvaise qualité hygiénique des laits contrôlés, il paraît clairement que le lait pasteurisé et commercialisé à Tiaret présente une qualité sanitaire très proche de celle des laits crus collectés dans de mauvaises condition hygiéniques, dans d'autres régions du monde **(Chye *et al* 2004; Jørgensen *et al* 2005; Sraïri *et al* 2006; Faid et Najimi 2007; Schooman et Swai 2011 ;Hidalgo-Milpa *et al* 2015).**

4- Expression des résultats du DELVOTEST.

Selon l'arrêté ministériel (1998), un lait de bonne qualité ne doit pas contenir des inhibiteurs bactériens .Ce qui ne concordent pas avec notre étude qui a révélé un pourcentage d'atteinte des échantillons de lait cru testé assez important. Ce qui traduit l'ampleur de l'utilisation des antibiotiques dans les exploitations laitières conventionnées avec l'unité GIPLAIT. De ce fait les résidus d'antibiotiques ont été détectés par l'emploi du Delvotest SP-NTtestvalidé conformément à la norme **ISO 1981 /IDF 1983.**

Cent échantillons de lait cru sont analysés par le Delvotest pour une recherche qualitative des résidus d'antibiotiques. A l'issu des analyses 25/100 (soit 25%) sont positifs 56/100(soit 56%) sont négatifs et 19/100 (soit 19%) sont douteux.

Ces résultats sont illustrés sur la figure 18 ci-contre :



☞***Figure.18.*** Pourcentages de contamination du lait cru révélés par le Delvotest.

Le Delvotest parmi les nombreux tests d'inhibiteurs microbiologiques qui sont appliqués au niveau des laiteries, et est utilisé directement sur les laits de tanks pour la recherche des résidus d'antibiotiques.

C'est le meilleur test d'inhibition microbiologique largement utilisé dans beaucoup de pays **(Salomskien et *al*, 2002).** C'est un test qui contient une souche particulièrement sensible à de nombreux antibiotiques, notamment à la pénicilline. Il s'agit d'un test spécifique pour la recherche des antibiotiques à noyau β lactame (2-4µg/Kg) mais possède une spécificité

diminuée pour d'autres tels que les tétracyclines (200-400 µg/ Kg), les macrolides (néomycine, érythromycine),la streptomycine , la gentamycine et les chloramphénicols**(Aggad et *al*,2009 ;Navratilova,2008 ;Althaus et *al*,2003 ;Botsoglou et Fletouris,2001).**

A la lumière de nos résultat nous avons constaté 25% des échantillons sont positifs au test, ils sont alors proches de ceux de **Aggad *et al*(2009)** qui mentionnent 28%, d'autres résultats rapportés qui sont de 26,38% par **Guetarni (2006),** et au Maroc **Srairi et *al*, (2004)** avec 26%.

Ceux de **Mahouz (2006**) sont légèrement inférieurs aux nôtres soit 21.42%.

D'autres travaux rapportent des pourcentages supérieurs aux nôtres et qui varient à travers le monde par exemple en chine durant 2002 et 2003 ont rapporté 37% de résultats positifs sur les laits de tanks et 17,24% sur le lait stérilisé(UHT) **(Deng *et al*, 2004)**.

Au Pakistan, 36,5% de lait commercialisé en 2006 étaient contaminés par des béta-lactames **(Khaskheti *et al*, 2008).**

Au Brésil environ 50% de lait pasteurisé livré au commerce contenaient des résidus d'antibiotiques ***(Nascimento et al, 2001).***

En pologne **Rybinska *et al*, 1995** rapportent 13-22%.

Dans notre étude le test n'a pas été appliqué sur le lait pasteurisé faute de moyen.

Par contre d'autres travaux ont révélé des pourcentages de contamination très bas à Tiaret 5,78% rapporté par **Ghazi (2012)** et 4,79% rapportés par **Beldjilali *et al* (2013)** étude faite à Oran.

Au Brésil **Borges et *al*, (2000**) rapportent 4,3%.

En Inde **Sudershan et Bhat. (1998)** rapportent 9%.

En Turquie **Ceyhan et Bozkurt(1987**) rapportent 5,5%.

Comme on a retrouvé des pourcentages très bas cités par exemple en :

- Espagne **Garcia *et al*. 2001** rapportent 0,18%.
- En Belgique et Danemark (**FSA ,2006)** rapporte 0.1%.
- Au Monténégro **Nikolic *et al*, 2011** rapportent 7,84 %.

On peut en conclure qu'en Algérie ou le contrôle se fait de manière occasionnelle la contamination est très importante par contre dans les pays ou le contrôle des résidus d'antibiotiques est pratiqué d'une manière stricte et rigoureuse, les contaminations sont minimes.

Il faut rappeler que ; des études se sont penchées sur les résidus d'antibiotiques affectant la sécurité sanitaire des aliments **(Donkor *et al*, 2011).**

Cependant le non respect des délais d'attente dans les pays en développement a pour conséquence une exposition à des taux élevés de résidus d'antibiotiques dans ces pays **(Aning , 2007).**

Conclusion générale

La présente étude basée sur l'analyse physico-chimique, la recherche microbiologique, et la détection des résidus d'antibiotiques avait pour but de mettre en évidence la présence des germes pathogènes dans le lait cru et pasteurisé, notamment les bactéries thermorésistantes et de déterminer la présence éventuelle des résidus d'antibiotiques dans le lait cru.

Les résultats des échantillons analysés de lait cru et de lait pasteurisé ont montré que :

- La qualité physico-chimique du lait cru est acceptable, elle révèle des échantillons qui sont proches des normes nationales, avec une acidité moyenne de 17,71°D, et une moyenne de densité de 1,0299.

Toutefois le taux moyen de matière grasse 29,07g/l est inférieur au standard (30-45g/l).

Quant aux laits pasteurisés conditionnés s'ils présentent à peu près la même acidité et le même extrait sec dégraissé moyen que les échantillons de lait cru, ils sont plus pauvres en matière grasse (27,3 contre 29,07g/l) et en extrait sec total (117,2 contre 128,35 g/l).

La qualité microbiologique est influencée par la présence de germes pathogènes, signale généralement des pratiques non hygiéniques.

Tous les groupes microbiens recherchés connaissent un développement important ainsi le niveau de la flore mésophile totale (GAMT) est très élevé par rapport aux normes ; il en est de même pour le niveau des *Coliformes fécaux* il dépasse de loin les normes standards.

Les *Staphylocoques* sont présents avec une fréquence élevée dans le lait cru et dans le lait pasteurisé, ils sont coagulases positives dans plus de 50% des deux laits analysés.

Les échantillons sont également contaminés par les *Coliformes fécaux*, les *Streptocoques fécaux* et les *Clostridiums sulfito-réducteurs.*

La présence des résidus d'antibiotiques à un taux important dans le lait cru a été également remarquée ce qui révèle le non respect des délais d'attente par les éleveurs.

Pour mettre fin aux problèmes rencontrés par l'élevage et l'industrie laitière donc aux contaminations diverses du lait :

- L'éleveur premier acteur dans la filière laitière doit appliquer et respecter les règles d'hygiène nécessaires dans toutes ses opérations, telle que l'hygiène des bâtiments d'élevage, l'hygiène de la traite, entretien de la machine à traire, ainsi que le respect de la chaine de froid lors de la conservation et le transport du lait de l'exploitation à la laiterie. Comme, il doit respecter les délais d'attente préconisés par le praticien vétérinaire, pour minimiser le taux de contamination du lait par les résidus d'antibiotiques.

*L'industriel le maillon de la chaine de fabrication entre l'éleveur et le consommateur doit :

Contrôler sévèrement le lait dés sa réception en raison des risques qu'il peut engendrer au consommateur à partir de cette étape.

Respecter les règles strictes d'hygiène et de désinfection de la totalité du circuit avant démarrage de la pasteurisation et après.

A cet effet, l'étude révèle un manque de respect des bonnes pratiques d'hygiène de production et de fabrication du lait et témoigne du risque que représente la consommation de tels laits crus et même pasteurisés, d'où la nécessité de mettre en œuvre des règles strictes des bonnes pratiques d'hygiène et un bon et meilleur encadrement de tous les manipulateurs de cette denrée si fragile et vite périssable, afin de maitriser la situation depuis la traite, la collecte et jusqu'à la fabrication et l'obtention d'un produit fini de bonne qualité .

Comme il faut s'assurer de l'efficacité du processus de pasteurisation, toute en surveillant la chaine de production du lait jusqu'à sa mise sur le marché.

Recommandations

Le lait est une denrée qui procure tous les apports nécessaires pour l'organisme. C'est un aliment complet qui contient à la fois matière grasse, protéines, les apports énergétiques en vitamines et les enzymes, mais tous ces nutriments font du lait un milieu de culture favorable à plusieurs germes pathogènes qui le rendent très dangereux s'il n'est pas bien conservé. Des infections fatales peuvent survenir et compromettent ainsi la santé du consommateur, si ces germes pathogènes se multiplient et produisent leurs toxines dans le lait.

En outre, le lait est exposé à la contamination par les résidus d'antibiotiques, qui nécessite un contrôle adéquat sur l'animal producteur du lait et sur le lait.

On peut alors maintenir bas le risque de contamination du lait par les germes pathogènes et par les résidus d'antibiotiques par une maitrise totale de sa production et de sa fabrication qui devrait impliquer :

L'assainissement des réservoirs de contamination :

- Au niveau du pis (trempage, traitement au tarissement et réforme des incurables)
- Au niveau de la litière (hygiène du logement, paillage suffisant curage).

- Un haut degré de résistance de la vache à l'infection mammaire (sélection génétique, optimisation nutritionnelle).
- L'utilisation raisonnée de traitements anti-infectieux.
- La prévention des toxi-infections alimentaires à staphylocoque passe par la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien du lait à température de réfrigération et le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et à la laiterie, afin de limiter le nombre de S.aureus présent dans le lait. Elle requiert également un savoir faire, et un suivi des paramètres technologiques.
- Des améliorations sont nécessaires au niveau de la déclaration et de l'investigation des toxi-infections alimentaires. En effet, beaucoup de foyers ne sont pas signalés et lorsqu'ils le sont, il n'est pas toujours possible de mettre en évidence la bactérie responsable ou l'aliment en cause.
- Les résidus se doivent d'être recherchés avec soin pour en maitriser au maximum les risques.
- Mise en place des limites maximales de résidus.
- Nécessité d'adoption par l'état, d'un cadre réglementaire rigoureux encore absent en Algérie (définition des LMR et les tests compatibles à leur détection) pour protéger à la fois les industriels (inhibitions technologiques) et les consommateurs (risque sanitaire).

- Le respect du délai ou de temps d'attente permet de commercialiser des denrées qui présentent des concentrations inférieures ou proches de la limite maximale des résidus garantissant la protection de la santé du consommateur.

On peut donc penser que la prise en compte de ces mesures aboutirait à un lait d'excellente qualité assurant en tous points la sécurité du consommateur et la satisfaction du transformateur.

Cependant, il y a surement beaucoup à faire en Algérie dans le domaine de la filière laitière pour maitriser les diverses déclinaisons d'un produit aussi variable et périssable que le lait.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Aarestrup, F. M. (1999). Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. J. Antimi-crob.

2. Abidi, K. (2004). Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson. Thèse : Médecine Vétérinaire, École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie. 6-23.

3. Acar, J.F., Bouanchaud, D.H., & Bu-Hoï, A. (1989). Résistance bactérienne aux antibiotiques. In : Bactériologie médicale, 2ème éd. Paris : Flammarion. 1989. 213-223.

4. Adrian, J. (1987).les vitamines. In : CEPIL, le lait matière première de l'industrie laitière, CEPIL- INRA, Paris, 1987, 113-119.

5. Adrian, J., Potus, J., &Frangne, R. (1995). La science alimentaire de A à Z technique et Documentation Lavoisier. Paris. p 244.

6. Afnor. (**2001**). Lait détermination de la teneur en matière grasse méthode gravimétrique (méthode de référence). NF EN ISO1211, décembre 2001, 21.

7. Afif, A., Faid, M., & Najimi, M. (2007). Effects of breeding and hygienic practices on raw cow milk quality in Tadla area, Morocco. Livestock Res. Rural Dev. 19.181.

8. Aggad, H., Mahouz, F., Ahmed Ammar, Y., &Kihal, M. (2009). Evaluation of milk hygienic quality in western Algeria. Rev. Méd. Vet., 160 (12): 590-595.

9. Aggad, H., Bridja,M., Bouhai,A. , Benaouali,M. ,&Djebli,A. (2010). Some quality aspects of Pasteurized milk in Algeria. World Journal of Dairy and Food Sciences, 5 (1):21-24.

10. Aghuin-Rogister, G. (2005). Résidus et contaminants des denrées alimentaires. Agents. N°12. 279-285. progrès dans leur analyse. Annal de médecine vétérinaire, n°149. 183- 187.

11. Akli, B. (2011). Analyse physico chimique et microbiologique de lait UHT demi- écrémé, centre de formation professionnelle EL Hidhab Sétif Algérie, BTS en contrôle de qualité dans les industries agros- alimentaires.

12. Alais, C., Guy., & Laurent, M. (2003). Biochimie alimentaire.5ème édition de l'abrégé. Dunod.Paris.183.

13. Althaus, R.L., Torres, A., Montero, A., Balasch, S., & Molina, M.P. (2003). Detection Limits of Antimicrobials in Ewe Milk by Delvotest Photometric Measurements.J. DairySci, 86.457-463.

14. Alais, C. (1984). La micelle de caséine et la coagulation du lait In science du lait : principes des techniques laitières. Paris : Ed Sepaic, 1984, 4^{éme} Ed. 723-764.

15. Alais, Ch., Guy, L., & Laurent, M. (2003). Biochimie alimentaire. 5^{éme} édition de l'abrégé, Dunod, Paris. Paris.183.

16. Aning, K.G., Donkar, E.S., Omore, A.,Nurah, G.K., Osafo, E.L.K. ,&Staal,S. (2007). Riskof exposure to marketed milk with antimicrobial drug residues in Ghana.Open food SCI J, 1, 1-5.

17. Anonyme, C. (1993). Arrêté interministériel (ministère de l'économie, ministère de l'agriculture et ministère de la santé et de la population) du 18 août 1993 relatifaux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

18. Anonyme, B. (2002).Pharmacologie générale : définition et origine des antibiotiques, cours Université catholique de larvain.

19. Anonyme, A. (2005).Cours de chromatographie liquide. http://eaduniv-angers.fr/Page2/DEUST/CHROMATOGRAPHIE. Date de consultation le 11/11/2007.

20. Anifantakis, E.M. (1980). Influence de la pénicilline sur la technologie et la qualité du fromage Feta fabriqué à partir du lait de brebis. Le Lait. 525-531.

21. Apfelbaum, M., Forrat, C., &Nillus, P. (1995) Diététique et nutrition. Edi Masson. Paris.479.

22. Apfelbaum, M., Roman, M. (2004). Diététique et nutrition, Edi Vuibert.168.

23. Asperger, H. (1994). *Staphylococcus .aureus*. In The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. (G. Hahn, édit.). Monographie, Document n°9405, Fédération internationale de laiterie, Bruxelles, 24-42.

24. Audigier, C.L., Figarella, J.F.&Zonszain, C. (1980). Biochemical analysis engineering.4publishing.Publishing Doin Ed.Paris.265.

25. Auclair,J. (1986).« l'aptitude du lait au développement de la flore lactique ». In ECK.A « le fromage ». 2éme édition, Tech et Doc, Lavoisier, Paris. (1986), 134-187.

26. Bamouh, A. (2006). Qualité globale du lait cru de vache au Maroc. Concept, état des lieux et perspectives d'amélioration. PNTTA : 7.

27. Barber, B.S. &Franklin, M.S. (1981). Bactériologie : contrôle d'hygiène du lait liquide. 313. Baseness' media, INC, New York. 416.

28. Beerens,H. &Luquet , R.M. (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

29. Beldjil Ali, A., Benlahcen, K. Guessas, B. Aggad, H.&Kihal, M. (2013). Evaluation of microbiological and sanitary quality of ewe's raw milk in Western of Algeria and detection of antibiotic residue by Delvotest. Advances in Environmental Biology, 7(6).1027-1033.

30. Bendib, M. (1997). La brucellose, diagnostic et traitement, la lettre de la prévention. Ministère de la santé et de la population. Alger : 1.

31. Bernet, (1996). Application d'une variante turbidimétrie du test limules à l'évolution de la flore du lait cru. INRA. Paris : 565 – 574.

32. Beuvier, E. (2005). Quelquesbases sur la microbiologie du lait et du fromage. INRA-unité de recherches en technologie et analyses laitière.

33. Blond, G. (1982). Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. Lait, 62 : 1982, 350-395.

34. Boatto, G., Cerri, R. Pan,A., Palamba,M. ,Pinhore, G.,& Giovanna. Denti, M. (1998). Monitoring of Benze penicillin in ovine milk by HPLC, Revue,and Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, volume 17, Août 1998. 733-738.

35. Borges, T., Santana, P., Mesquita, J., Mesquita, P., Silva, F., &Nunes, V. (2000). Antibiotic residues in pasteurized milk produced and marketed in Goias, Brazil. Cienc.Anim. Brasileira., 1.59-63.**Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J. (2001).**Drug Residues in Foods, Pharmacology.FoodSafety and Analysis.Marcel Dekker, New York.

36. Bories, G., et Louisot, P. (1998). Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale. Rapport effectué par le président de la Commission interministérielle et interprofessionnelle de l'alimentation animale et la présidente du Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Conseil supérieur d'hygiène publique de France. 3-21.

37. Boulahbal, F. (1994). Microbiologie clinique. Collection l'encours de médecine.173.

38. Bourgeois, C.M, MESCLE, J.F., & ZUCCA, J. (1988). Microbiologie alimentaire, aspectmicrobiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 01, Tech et Doc, Lavoisier, Paris.322.

39. Bourgeois, C.M., & Larpent, J.P. (1989). « Microbiologie alimentaire : la fermentation alimentaire ». Tome 2. Tech et Doc, Lavoisier.

40. Bourgeois, C.M., Mescele, J.F., & Zucca, J. (1996). Food Microbiology (Tome 01); microbiological aspect of safety and quality of food. Publishing technique and documentation Lavoisier Paris. 272-292.

41. Branger, A., Richer, M.M., & Roustel, S. Collectif. (2007). Microbiologie et alimentation. Educagri édition, Paris.77.

42. Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., de Buyser, M.-L., Collette, C., Garin-Bastuji,B.&Thorel, M.F. (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe.Rev.Sci.tech.off.int.Epiz., 16(1) ,452-471.

43. Broes, A., & Boutin, R. (2003). Antibiorésistance : que faire pour les producteurs de porc ? Congrès du porc du Québec 2003.

44. Bronnefoy, C., Guillet F., & Leyaral, G. (2002). Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Biosciences et Tech. Doin édition, CRDP d'aquitaine.138.

45. Brouillet, P. (1992). « Les résidus inhibiteurs dans le lait de la vache à la production ». Mémoire de CES d'hygiène dans les industries agro-alimentaires, Toulouse, (1992).

46. Brouillet, P. (1994). Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait. Recueil de médecine vétérinaire, n° 170, Juin-Juillet 1994. 443-454**.**

47. Brouillet, P. (2002). Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection. Bulletin des GVT n°15. Mai-Juin 2002. 25-41.

48. Brouillet, P. (2011). Antibiothérapie sous haute surveillance afin de préserver la santé publique et animale. Presse contact news, n° 28, mai 2011.1-3.

49. Broutin, C. (2005). Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière. Guide de bonnes pratiques d'hygiène. 29-31.

50. Broutin, C., Diedhiou, Y.&Dieng, M. (2005). Guide de bonnes pratiques d'hygiène. Edition Groupe de recherche et d'échanges technologiques.Sénégal.

51. Brule, G. (1987). Les minéraux, In : CEPIL, Le lait matière première de l'industrie laitière, CEPIL-INRA, Paris.1987, 87-98.

52. Brulé.G, Jeantel, R., Croguennec, T., Mahaut, M., & Schuck, P. (2008). Les produits laitiers. 2ème édition tec et Doc. Lavoisier. Paris.1-19.

53. Burgat-Sacaze, V. (1981). Risque d'accidents allergiques dus aux résidus. Rec. Méd. Vét., 1981, 157, (2). 187-190.

54. Cain, A.H. (2006). La conservation des aliments (les techniques).I.N.R.A.

55. Châtaigner,B. & Stevens, A. (2005). Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar, Institut Pasteur de Dakar. 6-9. 58) Cerniglia.

56. Chatellet, M. C. (2007). Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou, thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, 11-149.

57. Catsaras, M. & Bourgois, C. (1980). Les indices de contamination fécale. Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Le contrôle microbiologique Vol 3.Tec et Doc Lavoisier. APRIA.331.

58. Ceyhan, I.& Bozkurt, M. (1987). Ankara piyasasdnda satdlan sùtlerde penisilin araçtdrmasd. TûrkHij. Den. Biyol. Derg, p 44: 1-5.

59. Cheftel, G.C. & Cheftel, H. (1992). Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. VOL 01 : Edition Tech et Doc (Lavoisier) Paris. 318.

60. Chris, M.L., Luke,C. & Dietrich, A.V. (1999). Rapid analysis of tetracycline antibiotics by combined solid phase microextraction/high performance liquid chromatography/mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry.13(17).1744-1754.

61. Christie, W.W. (1995). Composition and structure of milk lipids, dans Fox PF. Advanced Dairy, Chemistry, Volume 2, Lipids, 2nded, 1-28.

62. C.I.D.I.L. (1999). Centre Interprofessionnel de documentation et d'information
Le lait: dénomination. Maison du lait France.

63. Cinquina, L., Longo, F., Anastasi, G., Giannetti, L., & Cozzani, R. (2003). Validation ofa high-performance liquid chromatography method for the détermination ofoxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle.Journal of Chromatography A, 987 (2003). 227–233.

64. Cloeckaert, A., Baucheron, S., Doublet, B., Mouline, C., Payot-Lacroix, S., Praud,E. &Quipe, K. (2003). Plasticité Génomique, Biodiversité, Antibiorésistance.
Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. 49-54.

65. Codex alimentarius. (2004). Code d'usages en matière d'hygiène pour le lait et les produits laitiers. Cac/rcp. 57-200.

66. Commission des Communautés européennes (1992). Les règles sanitaires pour la production et la mise sur le marché du lait cru, de lait traité thermiquement et de produits à base de lait. Directive92/46/CEE. J. off. Comm. européennes, L 268/1, 14.09.1992.

67. Corinne, M.L. (1989). Les aliments. ED. Moloine. Paris. 24,93

68. Corpet, D.E.&Brugere, H.B. (1995). Résidus antibiotiques dans les aliments d'origine animale : conséquences microbiologiques, évaluation de la dose sans effet chez l'homme. Revue de médecine vétérinaire, n°146, 2. 73-82.

69. Coulon, J.B., Rock, & Noel, Y. (2003). Caractéristiques nutritionnelles des produits laitiers et variation selon leur origine. INRA prod. anim : 275-278.

70. Croguennec, T., Jeant R. & Brulé, G. (2008). Fondements physicochimique de la technologie laitière, Edition ; Tech et Doc (Lavoisier) Paris.112.

71. CUDEC, (2001). De lait. Uni libre de Bruxelles. Département de l'hygiène alimentaire:30-35.

72. Davies, J. E. (1997). Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In: Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread. Ciba Foundation Symposium n° 207. 15-35.

73. De Buyser, M.L. & Lapeyre C. (1994). Mammites à staphylocoques et sécurité alimentaire. Point vêt, 26(n° spécial), 905-908.

74. De Buyser, M.L. (1996). Les staphylocoques. In Microbiologie alimentaire, Tome 1 (C. Bourgeois & J.F. Mescle, édit.). Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 106-119.

75. De Buyser, M.L., Lapeyre C, Dilasser F. & Janin F. (1997). Le point sur les TIAC à staphylocoques : foyers déclarés et résultats de l'analyse d'aliments suspects. In Actes du colloque «Faut-il craindre les microorganismes présents dans aliments ? » (P. Colin, édit.),13-14 mars, Paris. Société française de microbiologie, Paris, 7-16.

76. Deng, D.Y., Yu, S.B. &Liang, J.T. (2004). Investigation into the residual status of antibioticsin milk and milk powder in Foskan City, Guangong Province. Editorial Department of China Tropical Medicine.
http://www.cababstractsplus.org/abstracts/Abstract. aspx, date de consultation le 6-6-2010.

77. Derache, R. (1986). Toxicologie et sécurité des aliments, édition tec et Doc (Lavoisier), Paris : 26.

78. Desmazeaud, M.J. (1990). « Le lait milieu de culture : microbiologique aliments, nutrition ». n°8, 313-325.

79. Donkor, E.S., newman, M.J., Tay,S.C.K.,Dayie,N.T.K.D.,Bannerman,E.&Olu-Eck, A. (1987). Le fromage. 2éme édition. Tech et Doc. Lavoisier, Paris.152.

80. Eeckhout, E., Cornelis, M. & Jouret, M. (2001). Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances antimicrobiennes dans les denrées alimentaires.

81. Enry, A. (1977) in Bourgois et al. (1996). Facteurs influençant la consommation des laits par les spores. REV. 350.

82. Fabert, J.M. & Le poutre, j. (2002). Changement de la méthode de détection des inhibiteurs ; les conséquences pour les vétérinaires et les éleveurs, Revues : Bulletin des GVT, n°15, Avril-Mai-Juin 2002, P.33-34.

83. Fabre, J.M. & Joyes, D. (2000). Résidus dans le lait : observation des inhibiteurs bien utiliser les médicaments proceedings : lait, qualité et santé. 10-12.

84. Fabre, J.M., Moretain, J.P. & Berthelot, X. (2002). Évolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. Bulletin des GVT, n°15. Avril-Mai-Juin 2002. 26-

85. Fabre, J.M., Bouquet, O. & Petit, C. (2006). Extrait du livre : Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale. 25-47.

86. Faid, M. & Najimi, M. (2007). Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. Rev. Bio. Biotechnol. 2007.

87. Fanica, P. (2008). Le lait, la vache et le citadin, Edition Quae, France.189.
88. FAO/OMS N° A-4. (1973, 1977, 1985). Codex alimentarius. Code de principes concernant le lait et les produits laitiers. Normes internationales pour les produits laitiers et normes internationales individuelles pour les fromages.
89. FAO, (1995). Le lait et les produitslaitiers dans la nutrition humaine. N 28. Food and agriculture organization.Tome. 1.
90. Faye, B., & Loiseau, G. (2002). Source de contamination dans les filièreslaitières et exemples de démarche qualité, gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO : 5.
91. Federicci – Mathieu, C. (2000). Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quel risque? Quels moyens de maitrise? Revue : Bull. Group. Tech. Vêt.2000, 7,99-102.
92. Ferguson, J.P., Baxter, G.A., McEvoy, J.D.G., Stead, S., Rawlings, E.& Sharman M. (2002). Detection of streptomycin and dihydrostreptomycin residues in milk, honey and meat samples using an optical biosensor. Analyst, 127,951-956.
93. Fiscus-Mougel, F. (1993). Les résidus d'antibiotiques à usage vétérinaire dans le lait et la viande.Thèse de Doctorat en Pharmacie,Université Claude Bernard,Lyon,1993,n°53 84.
94. Follet, G. (2007). Utilisation des antibiotiques chez l'animal : Problèmes et Actions, Rencontres Parlementaires "Santé - Société - Entreprise",Assemblée Nationale du 12 novembre 2007 en France.
95. Fleming, D.W., Cochi, S.L., Mac Donald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D. and Giraud, J.P. (1998). Food microbiology, main food products microbiology. Ed., Dunod Paris, pp: 652.
96. Fredot, E. (2005). Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Lavoisier. Paris. 99, 11, 41.
97. Fredot, E. (2007). Connaissance des aliments « bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique ». Ed ; Tech et Doc Lavoisier. Paris. 397.
98. Frison, R. (1991). « Les inhibiteurs dans le lait, importance au niveau de la coopérative ORLAC». Rapport de stage. ISARA de Lyon, n°69.
99. FSA (2001). Food Standard Agency of UK, Report of the national study on the microbiological quality and heat processing of cows` milk. http://www. food.gov.uk/multimedia/pdfs/ milksurvey.pdf#page=2, date de consultation le 12-6-2010.
100. Gantere, J.P. (2003). L'actualité des zoonoses XXX symposium national de médecine vétérinaire. Principales zoonoses infectieuses transmises par les animauxde rente. (Unité de pathologie infectieuse. Ecole nationale vétérinaire de Nantes). 459-473.

101. Garcia, A.S., Garcia, M.H., Franco, J.L., Perea, G.M., Rojas, M.J.V., &Cardador, E.M(2001). Riesgos de residuos en lechedebito a tratamientosindebidos. Comunication XVIII Reunion G-temcal, COVAP. http://www. Solomamitis.com/.../Comunicacion_COVAP G.Temcal.pdf.

102. Gaudin, P. (1999). Origines et conséquences des substances dites inhibitrices dans la filière lait : étude au niveau d'un groupe laitier. Thèse doctorat vétérinaire, école vétérinaire de Nantes, année 1999. 26.

103. Gaynes, R.& Monnet, D. (1997). The contribution of antibiotic use on the frequency of antibiotic resistance in hospitals. In: Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread. Ciba Foundation Symposium, n° 20. 47-56.

104. Gedilaghine, V. (2005). La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action GTV partenaire dans le département de la manche. Thèse de Docteur Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, p 97.

105. Ghazi, K. (2012). Investigation des mammites subcliniques et suivi de la qualité hygiénique et sanitaire du lait cru de vache dans la région de Tiaret. Thèse de Doctorat. faculté des sciences, département de biologie, Université d'Oran (Senia).

106. Gillis, J.C. &ECK, A. (1997). Le fromage. Ed Tech et Doc Lavoisier .Paris. 539.

107. Giraudet, C.G.G. (1978). Étude et prophylaxie des accidents de fromagerie dus à une contamination du lait à la ferme par les germes de souillure. Thèse doctorat vétérinaire (1978) école nationale vétérinaire de Toulouse. 16-19.

108. Guetarni, D. (2006). Stratégie pour l'amélioration de la qualité et de la quantité du lait cru en Algérie. Procced. Journées scientifiques sur la production laitière. Tiaret, Algérie, 2006, 26-43.

109. Guiraud, J.P. (1998) . Microbiologie alimentaire, Microbiologie des principaux produits alimentaires. Edition DUNOD, Paris : 651.

110. Guiraud, J.P. &Rosec, J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition.AFNOR.211-21.

111. Golden, D.A., Jay, J.M. & Loesser, M.J. (2005). Modern Food microbiology.Springers-science, New York. 299.

112. Goursaud, J. (1985). Coagulation enzymatique du lait. In : biotechnologie, 1 vol Lavoisier édition, Paris. 301-339.

113. Guy, P., Royer, D., Mottier, P., Gremaud, E., Perisset, A. &Stadler, R. (2004). Quantitative determination of chloramphenicol in milk powders by isotope dilution liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, n°1054 (2004). 365–371

114. Gysi, M. (2006). Antibiotiques utilisés en production laitière en 2003 et 2004. Suisse Agric. n°38 (4). 215-220. laitière-conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action GTV partenaire dans le département de la manche, thèse pour le doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil. 9-73

115. Haeghebaert, S., Delarocque-Astagneau E., Vaillant, V.& Le Querrec, F. (1997). Lestoxi-infections alimentaires collectives en France en 1995.Bull. épidémiol. Hebdo, (n°

116. Hamama, A.&Elmouktafi, M. (1990). Etude de la qualité hygiénique du lait cru produit au Maroc .Maghrebvét. 1990, 5,17-20.

117. Harding, H. (1982). Prévention de la pollution de lait par les substancesétrangères. Ed: INRA, Paris. 77.

118. Heeschen, W.H.&Blüthgen, A. (1990). Veterinary drugs and pharmacologically active compounds, Residues and contaminants in milk and milk products, 1990, IDF specialissue 9101.16-39.

119. Helali, A. (1999). Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine ENG. 135.

120. Hidalgo-Milpa, M., Sanchez-Vera, E.&Espinoza-Ortega. (2015). Quality of milk in a traditional milk-cheese chain in the highlands of central Mexico.Liverstock Res.Rural Dev., 27:332.

121. Hillerton, J. E., Halley, B.I., Neaves, P.&Martin, D.R. (1998). Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using delvotest microbial inhibitor tests. Institute for animal health, Compton, newbury. 704-711.

122. Hugues, G., &Guidicelli, C.P. (1993). Protection de la santé : hygiène et environnement Ed. FLISON-ROCHE .104-114. (Spécial, février), 28-30.

123. IPLC, (2015). Institut Professionnel du lait de Consommation. Fiche pratique n°70-Famille de France. Http:/iplc.fr.

124. Jayarao, B.M., & Henning, D.R. (2001). Prevalence of food borne pathogens in bulk tankmilk.J.Dairy Sci., 84:2157-2162.

Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P.&Brulés, G.Collectif. (2006a). Science des aliments biochimie,microbiologie,procédés, produit.vol 1.Tech et Doc,Lavoisier.28,72-16, 281.

125. Jeantet,R., Croguennec, T., schuk, P. & Brulé, G. (2006b). Science des aliments, Edition ; Tech et Doc, (Lavoisier). 352.

126. Jeantel, R., Thomas, V., Pierre, S., &Gerard, B. (2006). Science des aliments. Tom2. EdTech et Doc, Paris. 456.

127. Jeantet, R., Croguennec, T., & Brulé, G. (2007). Science des aliments ; technologie desproduits alimentaires, vol 2. Tech et Doc, Lavoisier.16.

128. Jeantet, R., Croguennec., Schuck, P.&Brulés, G. (2008). Fondement physicochimique de la technologie laitière ; ED : Tech et Doc, Lavoisier.6.

129. Jensen, R.G.(1995). Handbook of milk composition. Academic press, SanDiego.577-592.

130. Jeon, M. Kim, J. Paeng, K.j., Park, S.W., &Paeng, I.R. (2008). Biotin-avidin mediatedcompetitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk.Microchemical Journal, 2008, 88, (1).26-31.

131. Jerome, P.,Stalley,T.J. &Lory,S.(2004). Microbiologie : cours et questions de révision.Dunod.Paris. 144, 152-153.

132. Joffin, C. &Joffin, J.N. (1999). Microbiologie alimentaire. 5éme édition, centre régionale de Documentation pédagogique (CRDPA) d'aquitaine. 18, 91-92.

133. J.O.R.A.N°69 du 27 octobre(1993). Arrêté interministériel du 29 safar 1414 correspondant au 18 aout 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. 16.

134. Karst, C. (1984). Les résidus du chloramphénicol : leur rôle dans les anémies aplasiqueshumaines. La semaine vétérinaire, n° 332, Avril 1984. 19.

135. Khaskheli, M, Malik, R.S, Arain, M.A, Soomro, A.H.&Arain, H.H. (2008).
Détection of ft - Lactam Antibiotic Residues in Market Milk. Pakistan Journal of Nutrition 7 (5). 682-685.

136. kotarski. S (2005). Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food to determine the effects on the human intestinal microflora.
Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2005, 28, (1).3-20.

137. Kuzdzal, S.,& Savoie, J. (1982). Le lait. 62.

138. Labie, Ch. (1981). Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Recueil de médecine vétérinaire, n°157. 161-167.

139. Labie, Ch. (1985). Denrées d'origine animale : Actualité sur les résidus dans les aliments. Revue de médecine vétérinaire, n°2, février 1985. 99.

140. Lafaye de Micheaux, P., Drouillet, R., & Liquet. (2010). Maitriser le langage, effectuer des analyses statistiques.

141. Larpent, J.P.(1996). Les aliments fermentés d'origine animale In Microbiologie alimentaire : aspects microbiologie de la sécurité et de la qualité des aliments. Tom 1 ; Tech et DocLavoisier, Paris. 530.

142. Larpent, J. P. (1997). Microbiologie alimentaire «technique de laboratoire », Edition, Tech et Doc, PP 23, 704, 806.

143. Larpent, J.P.& Larpent, G.M. (1997).Mémento technique de microbiologie édition Tech et DocLavoisier. Paris. 269.Initiation à la physico chimie du lait, EditionTech et Doc (Lavoisier).

144. Laurentie, M. &Sandnes, P. (2002). Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animales en Afrique : risque santé publique, Rev.sci.tech.off.int. Epiz., 33(3).

145. Le beuf, Y., Michel, J.C. & Moineau, S. (2002). Propriétés physico chimiques, valeur nutrition, qualité technologique et techniques d'analyse du lait, In science et technologie du lait.2002.

146. Le Breton, M.H., Savoy-Perroud, M.C. &Diserens, J.M. (2007). Validation and comparison of the Copan Milk Test and Delvotest SP-NT for the detection of antimicrobials in milk. AnalyticaChimicaActa, 2007.586 (1-2). 280-283.

147. Leclerc,H., Buttiaux,R. , Guillaume,R. ,&Wattre,J.P.(1970). Microbiologie appliqué Edition Doin, Paris.150-151.

148. Leclerc,H., Buttiaux, R.,Guillaume.&Wattre, P. (1976). Microbiologie appliquée Doinéditeur, Paris. 150-151.

149. Le Talec, J.I. (1981). Les médicaments susceptibles de laisser des résidus dans le lait. Semaine vétérinaire, n° 203. 7. 157.

150. Leyral, G., &Vierling, E. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène etsécurité alimentaire. 3eme édition, Dion. CRDP d'aquitaine.29.

151. Lillian, P., Ludmilla., Valdir, C. & Marina. (2011). Study of *Staphylococcus.aureus*in rawand pasteurized milk consumed in the Reconcavo area of the state of Bahia, Brazil. Food Process Techno 2011, 3, 6.

152. Linden, G. (1987). Le lait matière première de l'industrie laitière.Ed CIPIL.Paris.112-134.

153. Longin-Sauvageon,C., Beguin ,J.C.&Florent,M.(1990).« Interaction des résidus d'anthelminthique dans le lait de vache avec le flore bactérienne et penicilliumroqueforti ». Le lait, n°70, 37-44.

154. Lubin, D. (1998). Le lait et les produits laitiers. Dans la nutrition humaine. FAO. Rome(Italie).

155. Luquet, F. M. (1985). Lait et produits Laitiers (vache, brebis, chèvre) tome 1 : les laits de la mamelle à la laitière. Technique et Documentation Lavoisier.261.

156. Luquet, F.M. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques Tech et DocLavoisier. Paris. 2-4. Services scientifiques du premier Ministre. Affaires scientifiques, techniques et culturelles (SSTC) France. Rapport Final SSTC. 13-58.

157. Madigan, M.&Martin, K.O. (2007). Broeck biologie des microorganismes. 11[éme]éditionPearson. Education, France.151, 492.

158. Maghuin-Rogister, G., Janosi, A., Helbo, V., Van Peteghem, C., Sanders, E., Van Martel, J.L., Vandaele, E. (1999). Epidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez les bovins. Point Vêt., 1999, 30 (198). 195-202.

159. Maguire, H.C.F., Boyle, M., Lewis, M.J., Pankhurst, J., Wieneke, A., Jacob, M., Bruce, J. &Merard, M.,&Merad, R. (2001).Toxicité des antibiotiques, revue médecine du Maghreb2001, n°91.17.

160. Mahaut, M., Romain, J., Brule, G., &Schauck, P. (2000). Les produits industriels laitiers.Ed ; Tech et DocLavoisier. 154.

161. Mahouz, F. (2007). Suivi et évaluation de la qualité hygiénique du lait de vache dans la région de Tiaret. Thèse de Magister. Institut des sciences vétérinaires de Tiaret.

162. Marshall, K.R.&Harper, W.J. (1988). Trends in utilization of why and whey and wheyderivatives bulletin F.I.L.233. Bruxelles. 21-22.

163. Martinet, J. &Houdbine, M.H.I. (1993). Biologie de lactation. Edition Quae. Paris.545.

164. Mathieu, J. (1998). Initiation de la physicochimique du lait. Edition technique et Documentation Lavoisier. Paris. 220.

165. Maurice, Y. (1996). Analyse industrielle de la laiterie Schola : points critiques et facteurs de risques sanitaires. Rapport Cirad-emvtN°96057, septembre1996, Montpellier, France : 43.

166. Mayer, A., Deiana, J.& Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie générale : avec problèmes et exercices corrigés, biosciences et Tech.EditionDoin. France. 221.

167. Milhaud, G. (1981). Appréciation de la nuisance des résidus d'antibiotiques : toxicité directe du chloramphénicol. La Semaine vétérinaire, n° 203. 8.

168. Mihaud, G., Pinanet, L. , Persan, J.M , Bodin, G. , Puyt, J.D , Enriquez, B. &Euzeby, J.

(1982). Les antibiotiques, école nationale vétérinaire d'ALFORT et de Nantes.2-135.

169. Minor, T.E. &Marth, E.H. (1976). Staphylococci and their significance in foods.ElsevierScientific Publishing Co., Amsterdam. 297.

170. Mitchell, M. (2005). Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait de chèvre. Artificial Intelligence, n° 170(18). 1194-1212.

171. Moats, W.A. (2000). Determination of Tetracycline Antibiotics in Beef and Pork Tissues Using Ion-Paired Liquid Chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry.48(6). 2244-2248.

172. Moretain, J.P. (2000). La recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait. Proceedings lait, qualité et santé. 19-22.

173. Mottar, J.&Naudts, M. (1979). La qualité du lait chauffé à ultra haute température comparée à celle du lait pasteurisé et stérilisé dans la bouteille. Revue « le lait ». 477-588.

174. Mourot, D.&Loussouarn, S. (1981). Sensibilité des ferments lactiques aux antibiotiques.

175. MPI NZ (Ministry for Primary Industries, New Zealand). (2013). An assessment of the Effects of Pasteurization on Claimed Nutrition and Health Benefits of Raw Milk MPI Technical Paper No: 2014 /13 ISBN No: 978-0-0-478-43209-1. ISSN New Zealand Government No: 2253-3923, October.

176. Nabet, P.&Lindeng, G. (2001).« Constituant bioactifs », In DEBRRY., « lait,nutrition et santé ». Edition Tech et Doc, édit Tech et Doc, Lavoisier, 169-187.

177. Nascimento, G.G.F, Maestro, V., & Campos, M.S.P. (2001). The occurrence of antibiotic residues in milk in commercial establishments in the city of Piracicaba, Sao Paulo. Brazil. Rev. Nutr. 14 (2): 119-124.

178. Navratilova, P. (2008). Screening methods used for the detection of veterinary drug residues in raw cow milk. A review.Czech. J. Food SCI., 2008, 26, 393–401.

179. Nikolić, N., Mirecki, S.&Blagojević, M. (2011). Inhibitory substances in raw milk, Mljekarstvo 61 (2).182-187.

180. Neville, M.C., Zhang, P., Allen, J.C. (1995). Minerals,ions, and trace elements in milk.A ionic interactions in milk.In Jensen, R.G. Handbook of milk composition. Academic press, SanDiego. 1995.77-592.

181. O'connor, (1993). In Berrached, Bouanni.A.K. (2002).La qualité sanitaire des fromages traditionnels. Mémoire DES. Université D'Oran, ES-Sonia.17.

182. Okolo, M.I. (1986). Bacterial drug resistance in meat animals: a review. International Journal of Zoonoses, 13, (3).143-152.

183. Oliveira, R. De Pietro, A. & Cass, Q. (2006). Quantification of cephalexin as residue levels in bovine milk by high-performance liquid chromatography with on-line sample cleanup Talanta n° 71.1233–1238.utilisés en médecinevétérinaire. Rec. Med Vet. (Kiev) 1981,157.175-177.

184. O'Mahony M. (1991). A large outbreak of food poisoning of unknown aetiology associated with stilton cheese. Epidemiol. Infect 106,497-505.

185. Oteng, G.K. (1984). Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Tech et Doc, Lavoisier, Paris.2-4, 112-185.

186. Ouellette, D. (2004). Du bon lait pour du bon fromage, Conférence : symposium sur les bovins laitiers, 21 octobre 2004, hôtel des seigneurs, saint-hyacinthe, Québec, Canada.

187. Pelczar, M., &Chan, E.C.S. Fontaine. (1982) .Eléments de microbiologie. Edition HR Witte. Montréal. 115-126.

188. Pelmont, J. (1993). Enzymes. Office de la publication universitaire, Alger.

189. Pepin, G.&Boudene, Cl. (1977). Traitement des femelles laitières par voie galactophore à l'aide d'une nouvelle pénicilline semi synthétique. Recueil de médecine vétérinaire, 153. 565-571.

190. Perry, J., Staley, J.&Lorry,S.(2002). Microbiologie. Edition par Sinauer Associates. Etats- Unis. 160, 163, 164, 165.

191. Person, J. M. (1984). Influence des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive du consommateur. La Semaine vétérinaire, n° 203, Février 1981.8.

192. Pointurie,H.&Adda,J.(1969). Beurrerie industrielle. La maison Rustique, Paris.110,117.

193. Pougheon, S. (2001). Le lait et ses constituants : caractéristiques physico-chimiques. In lait, nutrition et santé. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris.

194. Pougheon,S.&Goursaud,J. (2001). Le lait caractéristique physico chimiques, In Debrey.G., lait, nutrition et santé, Tech et Doc.Paris. 6 .566.

195. Prescott, M., Harley, J.&Klein, A. (2003). Microbiologie, 2^{éme} édition française. De Boeck Superieur. Microbiology. 1137.

196. Prescott, L.M., John, Harley J.P,Klein.,Calbarg, M.B. &Dussart, J.(2003b).Microbiologie2^{éme} édition, Deboek, Bruxelles .42, 126, 140 – 142.

197. Rainard, P. &Poutrel, B. (1993). Protection immunitaire de la glande mammaire. In biologie de lactation (LM Houdebine, J Martinet, eds), INSERM-INRA. Paris, 415-429.

198. Raskin, P., Romnee, J.M., Kerrour, M., Dufrasne, I.&Istasse, I. (2007). Inhibitory

substances of bacillus steathermophilus var.calidolactis present in milk of cow with no antibiotic treatment. Renc. Rech. Ruminants, n°4. 291.

199. Remond, B.&Jouinet, M. (1987). Effet de l'alimentation et de la saison sur la composition du lait, In : Le lait matière première de l'industrie laitière. INRA Publication, Versailles, 1987, 151-159.

200. Revière, J. (1975). Les applications industrielles de la microbiologie. 6éme édition Maison,Paris. 49.

201. Reybroeck, W. (2004). Résidus d'antibiotiques dans le lait : Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs. Le Point Vétérinaire, n° 242, Janvier-Février 2004. 52-57.

202. Riantou, B. A. (2008). Contrôle des résidus : exemple des antibiotiques dans les aliments au Sénégal. Conférence de l'OIE sur les médicaments vétérinaires en Afrique « Harmonisation et enregistrement de la distribution et du contrôle de qualité », Dakar 25- 28 Mars 2008.

203. Ribadeau-Dumas, S. (1986). Microbial systems in milk-bath.Univ-press, Bath, Royaumeuni.

204. Ribardau, B.D. (1993). Les protéines du lait matière de l'industrie. CIPIL. Paris.

205. Robb, Ed. (2006). Pour un fromage de meilleure qualité. Pour l'amour des vaches, Volume 5, n°1. 6.

206. Roche, L.&Lorgue,G. (1985). Toxicologie vétérinaire, Paris : Point vétérinaire.

207. Romain J., Thomas, C., Michel, M., Pierre, S. & Gérard, B. (2007). Science des aliments.2éme Ed ; Tech et DocLavoisier. Vol 2 .458.

208. Romain, J., Thomas, C., Michel, M. Pierre, S.& Gérard, B. (2008). Les produits laitiers2éme Ed ; Tech et DocLavoisier. 185.

209. Romnée, J.M., (2007). Le contrôle des antibiotiques à la ferme : hier et aujourd'hui. Laboratoire national de référence, lait et produits laitiers, Journée d'étude le 7 mai 2007, AFSCA.

210. Romnée, J.M. (2009).potentialités des tests microbiens et de la spectrométrie infra-rouge dans la recherche d'antibiotiques dans le lait, dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique.50- 190.

211. Roux, J.L. (1994). Conserver les aliments : comparaison des méthodes et des techniques des technologies. Tech et Doc, Lavoisier. 112, 116, 208.

212. Rybinska, K, Postupolski, J., &Szczesna, M. (1995). Residues of antibiotics and otherinhibitory substances in milk.Rocz.Panstw.Zakl.Hig.46 (3).239-241.

213. Ryckaert, I. (2003). 42 questions sur le lait. Édition IMP Bruxelles, septembre 2003. 13-56.

214. Sˇalomskien,E.J., Zˇvirdauskien, E. R.&Orzˇekauskien, E. (2002). Naujopreparatoinhibitoriamspienenustatytik_urimasirjopalyginimassuanalogais (Development and comparative analysis of a preparation for determining inhibitors in milk). Maisto ChemijairTechnologija (Food Chemistry and Technology), 36.199–206.

215. Sanders, P. (2005). L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bulletin de l'académie vétérinaire de France, tome 158, n°2. 139-140.

216. Seegers, H., Fourichon, C.&Bareille, N. (2000). Santé des troupeaux laitiers et systèmesproduction : orientation de recherche pour la maitrise des mammites. Unités mixte ENV- INRA gestion de la santé animale. 39-44.

217. Singleton, (1999). Bactériologie. 2éme cycle, 2éme édition ; Dundo. Paris. 275.

218. Singleton, P. (2005). Bactériologique. Dunod.Paris. 392

219. Siousarran,V. (2003). Hygiène du lait cru en zone urbaine et périurbaine de Niamey, Niger, Rapport de stage. 42-43.

220. Sourav, K., Kamal, K.&Aftab, U. (2014). Microbiological quality analysis of raw, pasteurized, UHT milk samples collected from different locations in Bangladesh. Stanford Journal of Microbiology, December 2014.Vol.4, Issue 1.5-8.207**.**

221. Srairi, M.T., Hasni, I., Alaoui, Hamama. A. & Faye, B. (2004). Qualité physico chimiqueet contamination par les antibiotiques du lait de mélange en étables intensives au Maroc. Revue : Renc. Rec. Ruminant, n°11. 116-117.

222. Srairi, M. T.&Hamama, A. (2006). Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 2006, 137, 1-4.

223. Stolker, A. M., Rutgers, P., Oosterink, E., Lasaroms, J. J. P., Peters, J. B., Van Rhijn, J. &Nielen, W.F. (2008). Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs inmilk using UPLC–ToF-MS. Anal BioanalChem, 391. 2309–2322.

224. Stoltz, R. (2008). Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : évaluation et maitrise de ce danger, thèse de doctorat vétérinaire, université Claude-Bernard-Lyon I (médecine - pharmacie).11-79.

225. Stool, W. (2002). Alimentation de la vache laitière et composition du lait. Ed : station fédérale de la recherche en production animale. Rap actuel. Paris.

226. Sudershan, V.&Bhat, R. (1998). A survey on veterinary drug use and residues in milk in Hyderabad.Food Addit.Contam. 12. 645-650.

227. Taiw,M.(2011)- Investigation into the risk of exposure to antibioticresidues contaminating meat and egg in Ghana food control, 22, 869 – 873.

228. Tebibel, N., Kahlouche, B.&Athamani-Guemouri, S. (2010). Microbiologie. Office despublications universitaires. 70, 74, 93, 95, 115,124.

229. Tremoliere, J., Servecery, & Jacquet, R. (1980). Manuel d'administration humaine, T2,édition. Edition.ESF. 170.

230. Van Den Bogaard, A.E. (2001). Human health aspects of antibiotic use in food animals : a revieTijdschriftvoorDiergeneeskunde, 2001, 126, (18). 590-595.

231. Veillet, P. (1981). Réfrigération du lait à la ferme et organisation du transport In :Archives de documents de la FAO.www.fao.org/ doc rep/003.

232. Verhnes, R. &Vandaele, E. (2002). Détection rapide des inhibiteurs dans le lait. Point Vêt., 2002, 33 (227), 16-17.

233. Vial, F. (1993). Inhibiteurs dans le lait. Etude du taux de pollution des laits. Enquête chez des éleveurs de la région de Rhône-Alpes ». Thèse de Doctorat vétérinaire. Université Claude Bernard, Lyon.160 **.**

234. Viesseyre, R. (1975). Technologie du lait. Constitution, récolte, et transformation de lait.la maison rustique. Paris. 710.

235. Viesseyre, R. (1979). Technologie du lait. Constitution, récolte, et transformation de lait. 3^{éme}Edi. La maison rustique. Paris .714.

236. Vignola, C. (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed école polytechnique de Montréal. 154-175.

237.Waksman,S.(1943). Antibiotique.www.Universalis.fr/encyclopédie/antibiotiques.(repères chronologiques).

238. Weber, F. (1985). Réfrigération du lait à la ferme et organisation du transport. Food and agriculture organization of the United nations. Tome.12.

239. Weisen, J.P. (1974). La prophylaxie des mammites. Édition Vigot frères. 16-19.

240. Wolter, R.(1998). L'alimentation de la vache laitière. Ed. France agricole. 263.

241. Yala, D., Merad, S., Mohamadi, .D&OuarKorich, M.N. (2001). Classification et moded'action des antibiotiques, revue : médecine du Maghreb 2001, n°91.

242. Ziadi, H. (2010). Essai d'amélioration du taux de rétention de la tétracycline dans un polymère à empreinte moléculaire formé de co-polymères fonctionnalisés de l'acide lactique, Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maître en sciencespharmaceutiques, Université de Montréal, 1-57.

243. Zinedine, A. Faid, M.&Benlemlih,M.(2007).Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique. Remise,VOLUME1, N°1.1-9.

Annexes

ANNEXE N° 1

- **Détermination de l'acidité**

La détermination de l'acidité d'un lait permet d'apprécier la quantité d'acide produite par les bactéries (Joffin, 1999).

D'après Guiraud (1998) ; l'acidité du lait peut être exprimée de plusieurs façons :

- En degré Dornic correspond au nombre de $1/100^{eme}$ de ml de soude Dornic N/9 nécessaire pour assurer le virage de la phénolphtaléine.

01°D=0.1g d'acide lactique par litre de lait.

- En gramme d'acide lactique par litre de lait.
- Dosage par l'hydroxyde de sodium :
- Principe

Le lait présente une acidité qui peut-être titrée par la soude en présence de phénolphtaléine virant de l'incolore au rose.

- Technique :
- Introduire dans un tube à essai 10 ml de lait avec une pipette de précision.
- Ajouter 02 gouttes de phénolphtaléine à 1%.
- Verser avec une burette une solution de soude N/9(soude Dornic) jusqu'à coloration rose.
- Noter le nombre de ml versé.

ANNEXE N° 2

- **Détermination de la matière grasse**

Le dosage se fait par la méthode acido-butyrométrique de Gerber.

Les Protéines du lait sont dissoutes par l'acide sulfurique concentré, les matières grasses, résistantes à l'action de l'acide sulfurique, sont séparées par centrifugation à chaud, en présence d'alcool isoamylique, qui facilite la séparation. Les matières grasses, moins denses, se rassemblent en une couche claire et transparente. **(Audigie&*al*., 1980).**

- **Mode opératoire :**

– Déposer le butyromètre propre et sec sur un support, ampoule terminale vers le bas.

Introduire successivement :

– 10 ml d'acide sulfurique concentré d'H_2SO4.

– 11 ml de lait, introduire dans le butyromètre en plaçant la pointe de la pipette tenue inclinée 45°, en contact avec la paroi du butyromètre et en laissant le lait couler très lentement au début afin d'éviter un mélange prématuré de lait avec l'acide ce qui rendait la lecture difficile.

– 01 ml d'alcool isoamylique.

– Boucher le butyromètre avec un bouchon de caoutchouc sec sans bouleverser son contenu.

– Envelopper le butyromètre avec un chiffon et agiter jusqu'à la dissolution complète du mélange.

– Placer le butyromètre dans la centrifugeuse à 1500tr/mn, centrifuger pendant 3 à 5 minutes.

– En sortir le butyromètre avec précaution.

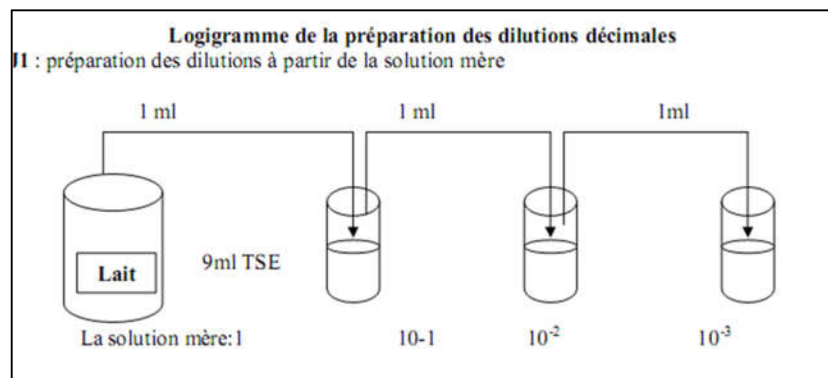
– En fin, lire le résultat au niveau inférieur de la membrane graisseuse.

ANNEXE N° 3

Préparation des dilutions décimales

Marquer les tubes de diluant (exemple 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4}). Et à partir du prélèvement du lait qui constitue la solution mère (SM), prélever aseptiquement 1 ml ; munie d'une poire à aspiration ;

l'homogénéisation du prélèvement se fait par aspiration et refoulement trois fois (norme NF ISO 7218) et l'ajouter dans le premier tube de la série qui contient 9 ml de TSE, c'est la dilution au 1/10 ou 10^{-1}et à partir de la dilution 10^{-1} prélever 1 ml à l'aide d'une nouvelle pipette et déplacer dans le deuxième tube de la série qui contient aussi 9 ml de TSE, c'est la dilution au 1/100 ou 10^{-2}et ainsi de suite pour les dilutions respectives au 1/1000 ou 10^{-3} ; au 1/10000 ou 10^{-4}.



☞ ***Figure 12.*** Schéma de la préparation des dilutions décimales

ANNEXE N° 4

- **Recherche et dénombrement des microorganismes aérobies mésophiles à 30°C**

Généralités	La flore totale aérobie mésophile est un bon indicateur de la qualité générale des produits. Pour la culture, elle nécessite un milieu nutritif non sélectif. Les germes qui se multiplient à 30°C sont des bactéries banales ; ceux qui se multiplient à 22°C sont considérés comme une flore pathogène.
Mode opératoire	Transférer aseptiquement 1 ml des dilutions retenues à l'aide d'une pipette dans des boites de pétri stériles. Compléter ensuite chaque boite environ 20 ml de la gélose PCA. Mélange soigneusement pour assurer l'homogénéisation entre l'inoculum et le milieu. Laisser solidifier en posant les boites sur une surface fraiche et horizontale.
Incubation	Placer les boites de pétri retournées dans une étuve à 30°C pendant 24 à 48h.
Lecture	Des colonies blanchâtres.

ANNEXE N° 5

- **Recherche et dénombrement des Coliformes à 37°C et des Coliformes fécaux à 44°C :**

Les Coliformes :

Ils appartiennent à la famille *Entérobactériaceae*, ils sont aéro-anaérobies facultatifs et fermentent rapidement le lactose à 30°C avec production de gaz, d'où la recherche sur milieu sélectif riche en lactose. (**LEBRES & al, 2001)**

En industrie laitière, leur présence et un indice d'une pollution d'origine fécale, ou d'une contamination par défaillance technologique ou hygiénique. **(I.S.O, 1981).**

Utiliser la gélose lactosée Biliée au cristal violet au neutre (VRBL).

Principe :

D'après **PETRANSXIEME et LAPIED (1981),** la gélose biliée lactosée au rouge neutre et violet cristal (VRBL) est un milieu sélectif qui permet de dénombrer les bactéries coliformes.

Les colonies de coliformes sont alors colorées en rouge violet (foncé et doivent avoir 0,5 mm de diamètre)

Mode opératoire :

- Déposer 1ml de la dilution de 10^{-4} et 10^{-5} dans une à deux boites de Pétri stériles.
- Verser environ 12 ml de gélose au VRBL fondue.
- Mélanger l'inoculum avec le milieu en imprimant à la boite de Pétri un mouvement circulaire.
- Placer les boites en position renversée ; à l'étuve
- A 37°C pendant 24 heures pour les Coliformes totaux ;
- A 44°C pendant 24 heures pour les Coliformes fécaux .

Lecture :

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussées sur les boites en tenant compte des facteurs de dilution, de plus :

- Ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 150 colonies.
- Compter les colonies colorées en rouge violet foncé d'au moins de 0,5 mm de diamètre.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- Il est possible de trouver plus de Coliformes fécaux que de Coliformes totaux **(NICKLIN &*al*, 2000).**

ANNEXE N° 6

- **Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* :**

Principe :

Staphylococcus aureus doit être recherché dans la majorité des produits laitiers. Sa présence par exemple dans un lait concentré sucré peut déterminer de graves intoxication voir mortelles chez les nourrissons. D'une manière générale cette espace demeure l'agent le plus fréquent provoquant des intoxications alimentaires **(BOURGEOIS &*al,* 1990).**

Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* est réalisé grâce à un milieu sélectif.

Un volume précis de produit ou de dilution est étalé sur un milieu sélectif solide (Baird Parker) **(JOFFIN & JOFFIN, 2000).**

Mode opération :

- Couler le milieu liquéfié dans des boites de pétri stériles.
- Transférer 0.1 ml de la SM dans des boites coulées et 0.1ml de la dilution 10^{-1} dans d'autres boites.

Incubation :

Les boites ensemencées sont mises 24 à 36h à l'étuve à 37°C retournées pour l'incubation.

Lecture

Staphylococcus aureus donne des colonies noires avec un halo clair et éventuellement un liseré blanc. Leur taille 0.5 à 2 mm ; aspect brillant.

ANNEXE N° 7

- **Recherche et dénombrement des *Streptocoques fécaux* :**

Les *Streptocoques fécaux* sont des Streptocoques des matières fécales. Ils appartiennent essentiellement au genre *Entérococcus*. Leur antigènes de paroi les classe dans le groupe D de lancefield**(JOFFIN & JOFFIN, 2000).**

Principe :

Selon **JOFFIN & JOFFIN (2000),** le dénombrement se fait en milieu liquide sélectif.

Le nombre de *streptocoques* étant en général peu élevé, on utilise dans un premier temps, un milieu d'enrichissement relativement sélectif, le milieu de Rothe (agent sélectif : azide N_3).

Une louche microbienne permet de conclure que dans les tubes correspondants à cultiver au moins un *Streptocoque fécal* présumé provenant de l'inoculum.

Mode opératoire :

- Introduire aseptiquement 10 ml du produit analysé (lait pasteurisé), dans trois tubes de milieu de Rothe à double concentration.
- Introduire aseptiquement 1 ml de lait pasteurisé, dans trois tubes de milieu de Rothe à simple concentration.
- Introduire aseptiquement 0,1 ml de lait pasteurisé, dans trois tubes de milieu de Rothe à simple concentration.
- S'il y a des troubles dans les tubes de simple concentration contenant 0,1 ml du lait pasteurisé, on passe au test confirmatif.

Test confirmatif pour les streptocoques fécaux : le milieu Eva litsky :

Mode opératoire :

Agiter les milieux de Rothe positifs (louche microbienne).

Reporter une anse de chacun des tubes de Rothe positifs dans un tube du milieu de l'Eva Listky.

Incuber les tubes 24 à 48 heures à 37°C.

Lecture :

Les tubes présentant un trouble homogène et une pastille violette (non constante) au fond contiennent au moins un *streptocoque fécale.* Il est vivement souhaitable d'identifier les *streptocoques fécaux* obtenus après leur isolement sur un milieu approprié : gélose BEA (bile-esculine-azide) **(CHRISTIANE JOFFIN, 1993).**

ANNEXE N° 8

- **Recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs* :**

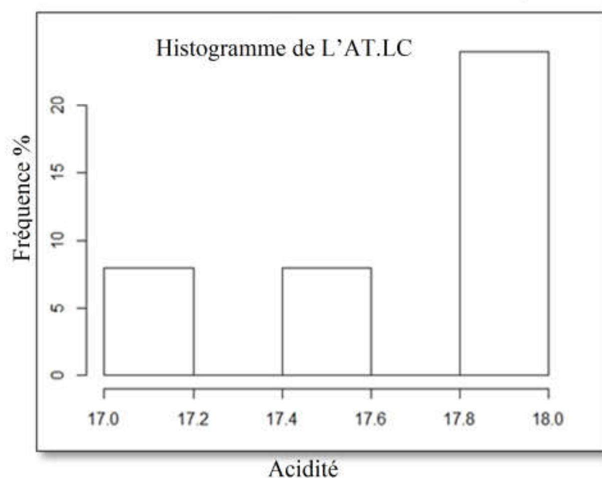
Les *Clostridium sulfito-réducteurs*, principalement *Clostridium perfringens,* sont des anaérobies sporulés, hôtes habituels du tube digestif de l'homme sur des milieux appropries (milieu à l'extrait de viande et de levure) en présence de sulfite de sodium et l'alun de fer, ils donnent après 24 heures ou 48 heures d'incubation à 37°C des colonies entourées d'une auréole noire par formation de sulfure de fer **(BARON &*al*, 2000).**

La recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs* peut s'effectuer par dénombrement des formes végétatives et sporulées ou uniquement selon les produits sur les formes sporulées, *Clostridium sulfito-réducteurs* : est un hôte des intestins de l'homme et de certain animaux mais il a également une origine tellurique. Sa présence dans les produits laitiers est à l'origine d'intoxications alimentaires **(NICKLIN &*al*, 2000).**

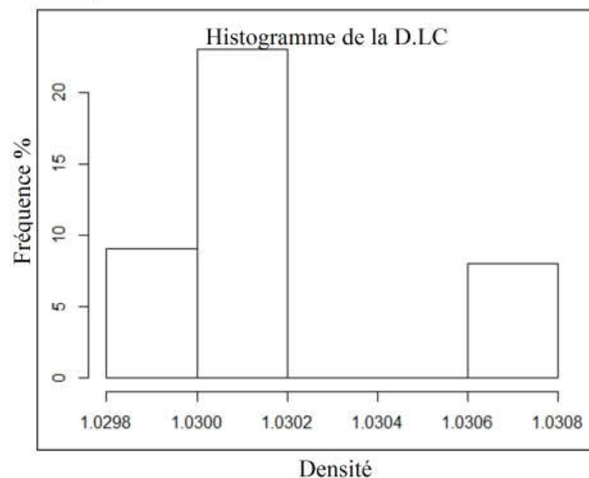
Mode opératoire :

On introduit aseptiquement 5 ml du produit à analyser (solution mère de lait pasteurisé) dans un tube stérile, On met au bain marie à 80°C pendant 10 minutes puis on le fait refroidir et on le rempli de gélose V.F jusqu'à l'extrémité.

L'incubation à lieu à 37°C pendant 72 heures. Les colonies de *Clostridium* apparaissent entourées d'un halo noir et les résultats sont exprimés en nombre des spores par ml de produit **(CATSARAS & BOURGEOIS, 1980).**



☞***Figure a.*** Fréquence de l'acidité titrable du LC



☞ ***Figure b***. Fréquence de la densité du lait cru.

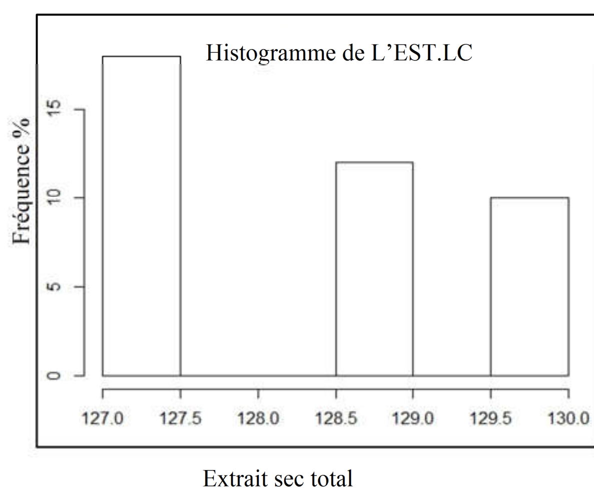
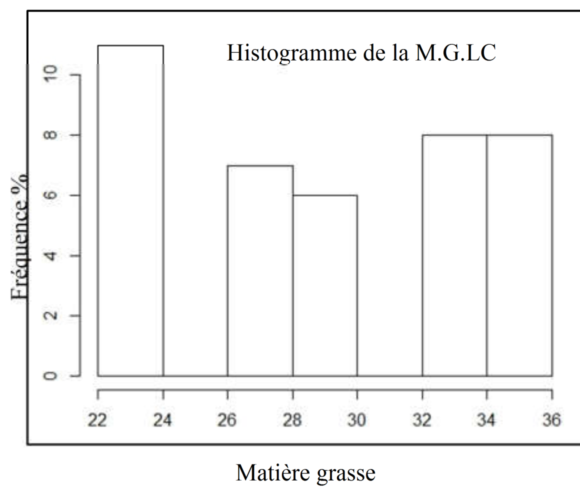
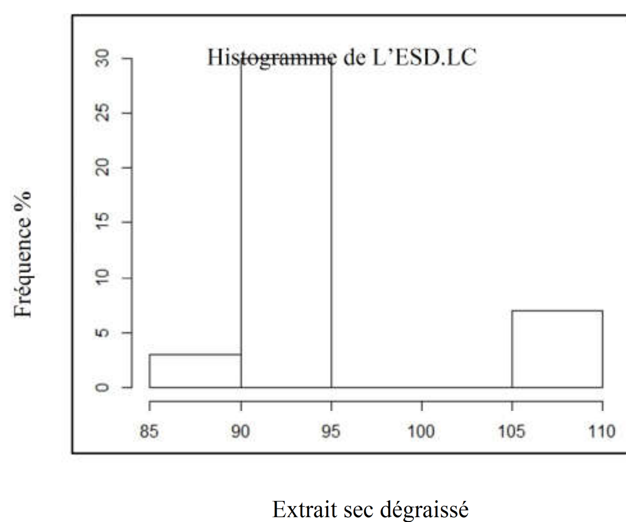


Figure c .Fréquence de L'EST. cru du lait



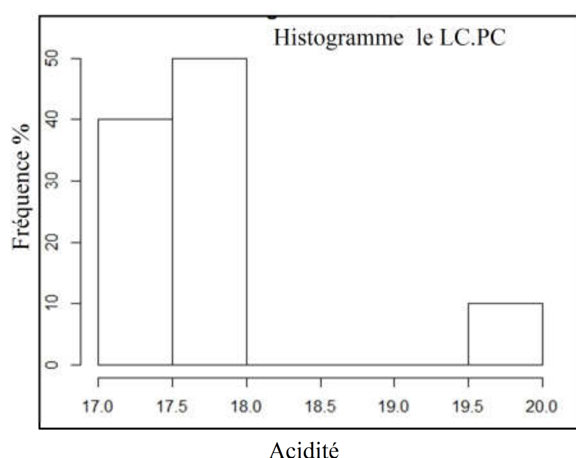
☞***Figure*** d. Fréquence de LA MG du lait cru.



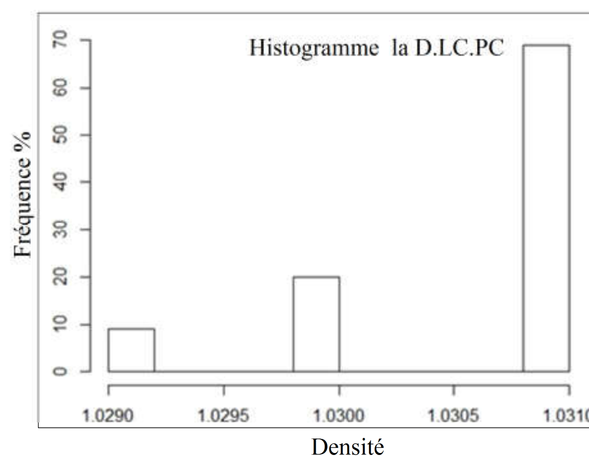
☞**Figure e**. Fréquence de L'ESD du lait cru.

☞**Figure 14.** Représentation graphique des paramètres physico-chimiques du lait cru.

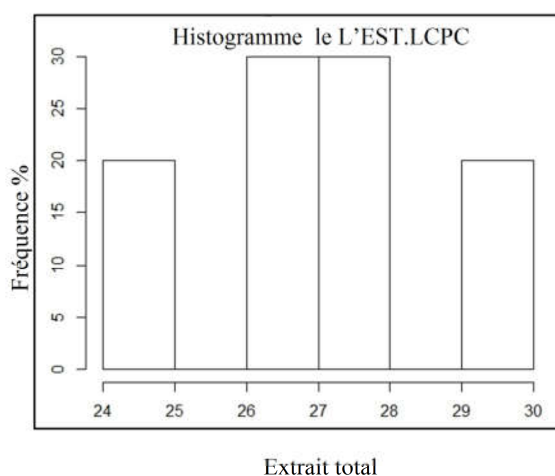
ANNEXE N° 10



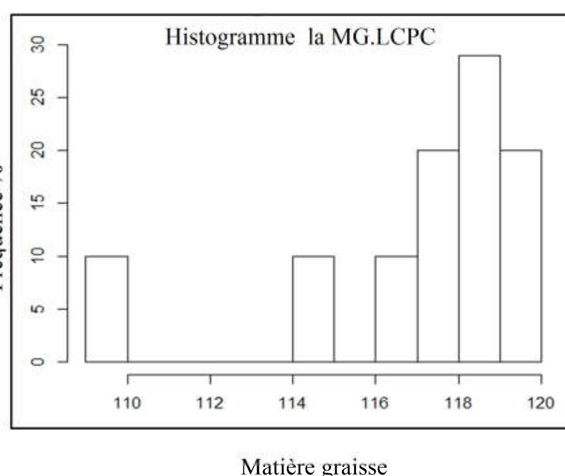
☞***Figure f*** .Fréquence de l'AT du lait conditionné pasteurisé.



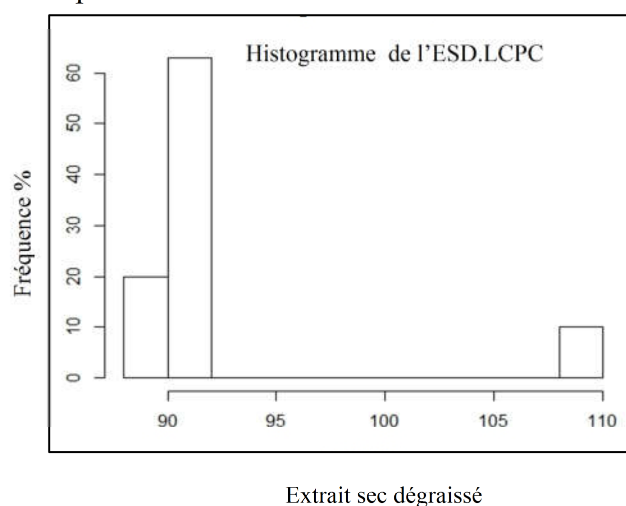
☞***Figure g*** . Fréquence de la densité du lait conditionné pasteurisé.



☞***Figure h.*** Fréquence de la MG du lait conditionné pasteurisé.



☞***Figure i.*** Fréquence de l'EST du lait conditionné pasteurisé



☞***Figure j*** .Fréquence de l'ESD du lait conditionné pasteurisé

☞***Figure 15.*** Représentation graphique des paramètres physico-chimiques du lait pasteurisé conditionné.

ANNEXE N° 11

Bactéries	GAMT	CF	S.aureus	SF	SRC
Nombre de Cas positifs	40	27	36	37	06
Pourcentage	100	67.5	90	92.5	15

☞ ***Tableau 28.***Fréquence de contamination microbienne des échantillons de lait cru.

ANNEXE N° 12

Bactéries	GAMT	CF	S.aureus	SF	SRC
Nombre de Cas positifs	55	41	61	100	34
Pourcentage	55	41	61	100	34

☞***Tableau 30****:*Fréquences des contaminations microbiennes des échantillons pasteurisés de lait conditionné

ANNEXE N° 13

Le ß- STAR.

Réactifs pour le ß- STAR 25 (620 Esher place Lamsing, MI 48912).

8 (234-5333 E.44 / Canada) 05171372-9200.

Neogen ww. Com.USA.

Le ß- STAR 25 permet la réalisation de 25 analyses. Le coffret contient :

- ✓ 25 flacons contenant le récepteur sous forme lyophilisé.
- ✓ 1 flacon blanc contenant 25 tigettes.
- ✓ 1 seringue munie d'un ressort et 25 embouts jetables.
- ✓ 1 notice d'information
- ✓ Conservation du kit
- ✓ Durée : jusqu'à la date de péremption
- ✓ Température :2-8 °C
- ✓ Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'emballage du coffret.

Cependant les réactifs peuvent être maintenus hors du réfrigérateur pendant la durée des analyses.

Matériel

- ✓ Le kit contient les pipettes nécessaires à la réalisation du test
- ✓ Incubateur réglé sur 47.5± 1°C.





ANNEXE N° 14

Présentation du kit DELVOTEST (SP 5PACK) :

- **Un coffret de 100 ampoules contenant un milieu gélosé ensemencé par le germe test (spores de *Bacillus stéarothermophilus*Var. calidolactis) avec un indicateur coloré de pH.**
- **Une seringue calibrée (0.1ml)**
- **100 embouts jetables utilisés pour chaque prélèvement**

Un incubateur

ANNEXE N° 15

CLASSIFICATION ET SPECIFICATIONS DES LAITS

Art. 7.

- Les laits sont classés, en fonction du nombre de germes totaux, en trois (3) catégories:
- Catégorie A: moins de 100.000 germes totaux par millilitre;
- Catégorie B: de 100.000 à 500.000 germes totaux par millilitre;
- Catégorie C: plus de 500.000 à 2.000.000 de germes totaux par millilitre.

Art. 8.

- Le lait doit répondre aux spécifications suivantes:

* Germes totaux .... maximum deux (02) millions;
* Salmonelle .... absence;
* Stabilité à l'ébullition .... stable;
* Acidité en grammes d'acide lactique par litre maximum 1,8;
* Densité .... 1030 - 1034;
* Matière grasse.. 34 grammes par litre au minimum.

LAITS PASTEURISES

Art. 15. -

Peuvent être soumis à la pasteurisation, le lait au sens de l'article 2 ci-dessus et les laits reconstitués et/ou combinés tels que définis aux articles 11 et 13 ci-dessus.

Art. 16. -

Le lait pasteurisé est le fait soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction de la presque totalité de la microflore banale et de la totalité de la microflore pathogène, en s'efforçant de ne pas affecter notamment la structure physique du lait, sa constitution, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines

Art. 17

-Pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis:

-Soit à une température de 63° C pendant une durée de 30 minutes;

-Soit à une température de 85° C pendant une durée de 15 à 20 secondes;

-Soit encore instantanément à une température de 95° C.

Le lait pasteurisé ainsi traité doit être refroidi dans les soixante (60) minutes qui suivent son traitement thermique, à une température n'excédant pas les six (06) degrés Celsius.

Pendant toute la durée de l'opération de pasteurisation, la température ne doit pas s'abaisser au-dessous du minimum requis par le procédé utilisé, en quelque point que ce soit de la masse de lait à traiter.

Art. 18.

La gamme des laits pasteurisés, est fixée comme suit:

- Lait entier pasteurisé: sa teneur en matières grasses est de 2,8 % minimum (28 grammes par litre de matières grasses minimum);
- Lait partiellement écrémé pasteurisé: sa teneur en matières grasses est de 1,5% à 2% (de 15 à 20 grammes par litre de matières grasses);
- Lait écrémé pasteurisé: sa teneur en matières grasses est de 0,15 % au maximum (1,5 grammes par litre de matières grasses au maximum).

Art. 19

- Le lait pasteurisé doit répondre aux spécifications suivantes:

SPECIFICATIONS	A LA DATE DE FABRICATION	A LA DATE DE PEREMPTION
Microorganismes aérobies à 30° C par millilitre (germes totaux)	30 000	200 000
Coliformes à 30° C (par millilitre)	10	100
Coliformes fécaux (par millilitre)	1	1
Clostridium sulfito -réducteur à 46 °C dans 100 millilitres (spores)	---	09
Staphylococcus aureus (par millilitre)	1	10
Salmonelles dans 250 millilitres	absence	absence
Phosphatase	test négatif	test négatif
Acidité en grammes d'acide lactique	-----	1,4 à 1,8
Stabilité à l'ébullition	_____	stable
Analyse sensorielle	------	sans défaut

Art. 20.

- Le lait pasteurisé doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius.

La date de péremption du lait pasteurisé conditionné est fixée, au plus, à sept (7) jours à compter de la date de fabrication.

Annexes

J. Appl. Environ. Biol. Sci., 6(12)63-68, 2016
© 2016, TextRoad Publication

ISSN: 2090-4274
Journal of Applied Environmental
and Biological Sciences
www.textroad.com

Physicochemical Composition and Sanitary Quality of Pasteurized Milk Marketed in Western Algeria

Habiba Fernane[1], Aicha Tir Touil[2], Hama Benbarek[2] and Mokhtar Benchohra[1*]

[1]Department of Biomedicine, Institute of Veterinary Science, Ibn Khaldoun University, Tiaret 14000, Algeria
[2]Department of Biology Science, Faculty of Natural and Life Sciences, Mustapha Stambouli University, Mascara 29000, Algeria

Received: July 28, 2016
Accepted: October 10, 2016

ABSTRACT

This study was carried out to assess the safety and to check for thermo-resistant bacteria of pasteurized cow milk. Physicochemical and bacteriological tests were performed on 100 pasteurized milk samples. The acidity, density, fat, total dry extract (TDE), and the defatted dry extract (DDE) were studied; also, germs were researched according to the national standards. Mesophilic flora count was high; it varied between 10^4 and 1.4×10^6, the total coliforms (TC) and fecal coliforms (FC) content was elevated. 61% of sampled milk was contaminated with *Staphylococcus aureus,* 34% by Sulphite-reducing *Clostridia* (SRC) and 100% by *fecal Streptococci* (FS). The overall results obtained suggested that pasteurized milks were of poor hygienic quality and were not conformed to the Algerian standard; in infringement of the current sanitary regulation. Thus, there is urgent need to test and monitor the milk chain periodically, after pasteurization and packaging.
KEYWORDS: Milk hygienic Quality, Milk composition, Pasteurization, Contamination, Thermo-Resistant Bacteria

INTRODUCTION

Milk is an important component of our daily diet; it is an important source of minerals, carbohydrate, protein, lipid and vitamins. Due to the growing human needs, milk technology has pioneered methods to better preserve the milk for a long time, such pasteurization and sterilization.

However, milk is a nutritious medium that can support growth of a large selection of bacterial contaminants; bacteria are able to use proteins, fats, carbohydrates and vitamins in milk for their growth and metabolism [1]. Hence, milk should not be consumed or used in dairy products without a former pasteurization.

Pasteurization process of milk is a heat treatment intended to reduce the number of any harmful microorganisms to a level at which they do not constitute a significant health hazard; reduce the level of undesirable enzymes and spoilage bacteria, and thus increase the keeping quality; achieve the preceding two goals while maintaining the nutritional integrity of the original product [2].

Nevertheless, some agents responsible for zoonosis can be transmitted to the human by milk consumption even if pasteurized [3] so, control of pasteurized milk hygiene proves to be very important. As well, it may be taking into account the conditions in which the milk is produced, including the respect of hygiene mastery of manipulation, to avoid post pasteurization contamination.

In Algeria, a few works were focused on milk quality evaluation [4,5]. The present investigation aimed to spot light on the quality of pasteurized cow milk marketed in Tiaret area (Algeria); determined by physicochemical and bacteriological tests.

MATERIAL AND METHODS

Sources of milk samples

Milk samples were collected from GIPLAIT (public milk factory) of Tiaret District in Western Algeria. The study was conducted from December 2013 to May 2014, on 100 samples taken from 100 packets of pasteurized milk. Samples were stored at 6-8 °C till laboratory tests carried out after 4 hours.

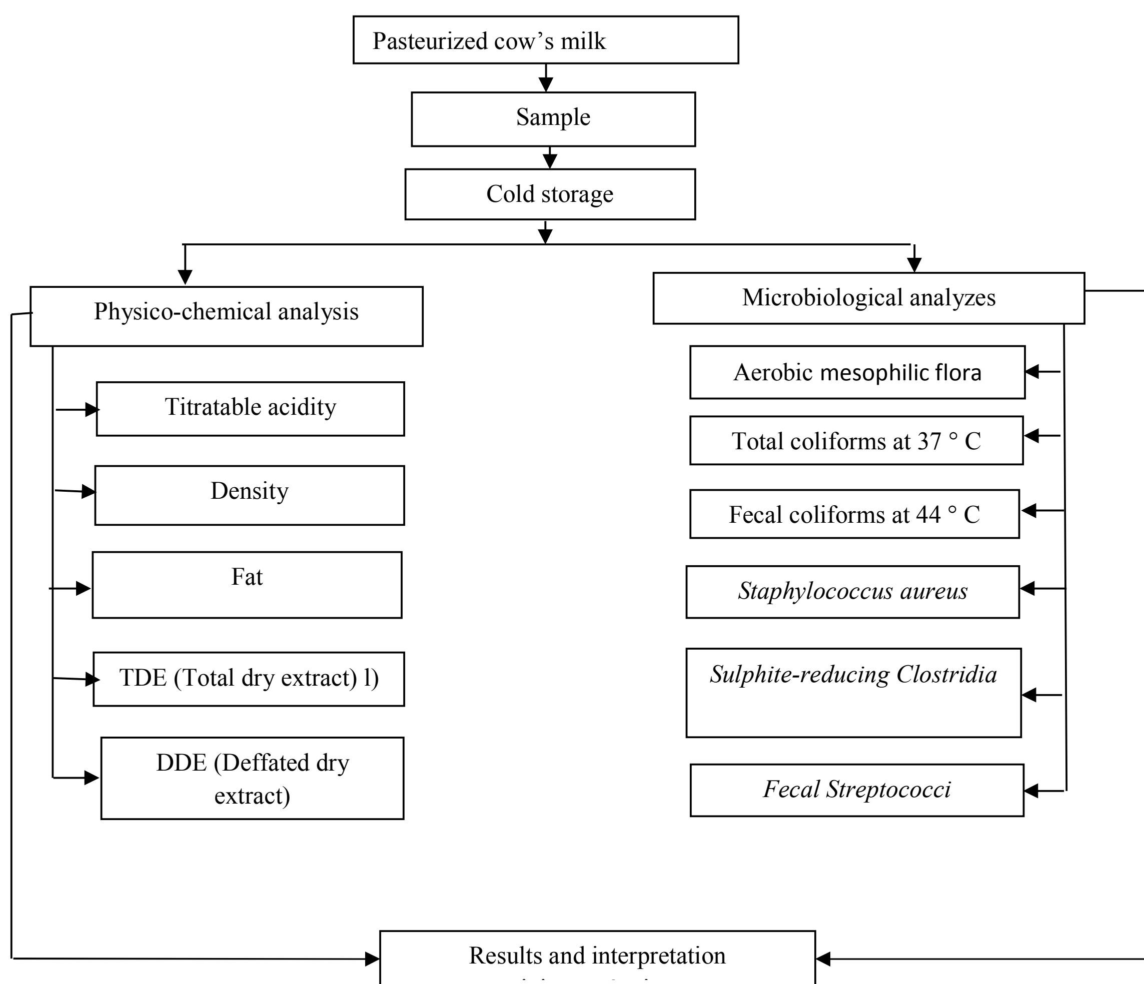
Experimental protocol

Physicochemical analysis*:* Acidity was measured by titration with a solution of sodium hydroxide (N/ 9) in the presence of the phenolphthalein at 1 percent, as indicator [6]. Density was calculated by a thermolactodensimeter type Dornic. It is the ratio of masses of a same volume of milk and water at 20°C [7]. Fat was carried out by the butyrometer according to the method described by Abiazar [8]. Total dry extract (TDE) and the defatted dry

***Corresponding author:** Mokhtar Benchohra, Department of Biomedicine, Institute of Veterinary Science, Ibn Khaldoun Univ Tiaret, Poste de l’Université BP 1, 14010 Tiaret, Algeria, E-mail:mok.benchohra@yahoo.fr

extract (DDE) expressed as a percentage mass, consist on evaporation method; residue was weighed thereafter [9].

***Microbiological analysis**:* Germs were examined by total aerobic mesophilic flora (TAMF) at 30°C; enumeration was carried out on agar PCA (Pasteur Institute Algeria) [7].VRBL agar (Difco) was used to detect TC (Total coliforms) at 37°C and FC (Fecal coliforms) at 44°C [10]. Research of *S. aureus* was made according to Giraud [11] and count using Baird-parker agar (Difco) [12]. Determination of SRC (Sulphite-reducing *Clostridia*) was carried out according to Catsaras and Bourgeois [13]. Whereas, VF agar was used for detecting FS (Fecal streptococci) and counting was done on Roth and Litsky medium [14].
Conducted tests are summarized in the following flowchart:



RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical characteristics of milks

The results of analyses are summarized in table 1; they were discussed following the national standard [15].

Table 1: Physicochemical parameters in checked samples of pasteurized milk.

Parameters								**Total No. of samples**	**Mean**	**Standard [15]**
TA (°D)	17° (n=40)		18° (n=50)		20° (n=10)		-- --	n=100	17.8°	16° - 19°
Density	1.029 (n=10)	1.030 (n=20)	1.031 (n=20)	1.031 (n=30)	1.031 (n=10)	1.031 (n=10)	-- --	n=100	1.030	1.027 - 1.035

Fat g/l	24 (n=20)	27 (n=30)	28 (n=30)	30 (n=20)	-- --	-- --	-- --	n=100	27.3	30 - 45
TDE g/l	109.5 (n=10)	115 (n=10)	116.5 (n=10)	118 (n=20)	118.5 (n=30)	119.5 (n=10)	120 (n=10)	n=100	117.2	125 - 130
DDE g/l	89.5 (n=20)	90 (n=10)	90.5 (n=20)	91 (n=10)	91.5 (n=10)	92 (n=20)	109.5 (n=10)	n=100	92.5	90 - 95
TA= Titratable acidity; °= Dornic degree; TDE= Total dry extract; DDE= Defatted dry extract; n = number of samples										

The large proportion of checking milk (90%) had a titratable acidity (TA) close to standard [15] except for 10 samples; showing a slight elevation. Acidity increase might be due to a high microorganism's number of milk and/or to microorganism's proliferation; that metabolism caused a high production of lactic acid, on one hand, and hygienic conditions during milking, on other [7]. According to Schmidt *et al*. [16] as raw milk increased in age TA increased to the upper level; also, augmentation of milk protein content has the same effect.
Concerning milk density, it was in compliance with the national standard. About the fat content of milks, 80% of samples results ranged between 24 and 28g/l; which are below the reference value (Table 1). This is the most variable component of milk [17], its less level might be due to an excessive extraction of fat from raw milk in processing for producing butter. TDE rate of all results are substandard; the dray matter represents all the components of milk except for water and dissolved grasses. The less level of TDE can be explained by milk dilution. For the DDE, according to Veisseyre [18] one liter of milk contains 90 to 95 g; 90% of our results accord with these values which are within the regulatory limit, except ten samples; with high level (109.5g/l). This increase might be due to environmental and dietary factors.

Total mesophilic flora and hygienic quality
The results of bacteriological analyses are presented in table 2; they were discussed following the regulatory limit [12].

Table 2: Microbiological parameters in checked samples of pasteurized milk.

Total samples (N=100)	**TAMF**	**Total coliforms**	**Fecal coliforms**	***Staphylococcus aureus***	***Sulphite-reducing Clostridia***	***Fecal Streptococci***
	Number of colonies (CFU/ml)					
12	1.4×10^6	10^5	1.4×10^4	Present	Present	150
12	1.2×10^5	2.1×10^4	1.6×10^3	Present	Present	120
10	1.5×10^5	10^4	Absent	Present	Present	120
12	2.1×10^5	1.8×10^4	Absent	Absent	Absent	210
08	1.6×10^4	3.1×10^3	4.1×10^2	Absent	Absent	1100
09	1.9×10^5	1.8×10^4	10^3	Present	Absent	460
09	1.7×10^4	200	Absent	Present	Absent	1100
09	2.6×10^4	1.6×10^2	Absent	Present	Absent	240
13	1.3×10^4	1.3×10^2	Absent	Absent	Absent	1100
06	10^4	Absent	Absent	Absent	Absent	460
Standards	10^5	10^3	10^2	Absent	Absent	Absent/0.1ml

Thus, the microbiological quality control of pasteurized cow milk samples is determined by the count of mesophilic aerobic bacteria, indicators who provide an assessment on the overall level of milk contamination [14]. TAMF permit to appreciating microbial pollution and general quality of food product [18, 19].The fact that TAMF charges were highest, in 55% of samples, proved that milk pasteurization is not efficient. In practice, an efficient pasteurization process should kill most of pathogen bacteria; however, some bacteria can survive pasteurization and are called thermodurics [20]. Or a possible contamination of the product has been occurred during packaging processes. Also, numerous factors may affect the microbiological quality of pasteurized milk; these include duration of storage of raw milk prior to processing, heat-treatment and concentration of heat-resistant microorganisms, contaminants, packaging system adopted, post pasteurization storage conditions [21] and biofilm microflora; which seems to be the main recontamination source of milk [22]. Bacteria surviving pasteurization and cleaning in place (CIP) (circulation of cleaning liquids through machines and other equipment in a cleaning circuit) can potentially attach to piping and fitting surfaces, where they could promote the development of biofilm structures that enable protection against high temperatures and chemical compounds; as reported in two recent Algerian studies [23,24] ; showing that most bacterial types were found at different sampling points of pasteurization. Furthermore, biofilms are difficult to eradicate using conventional cleaning and disinfection procedures due to their resistant phenotype and disinfectants do not penetrate the biofilm matrix [21].
Coliform in milk is one of the best indications for judging its sanitary quality [20], thus when in high numbers, coliforms can cause food poisoning [14]. In our study, 63% of samples showed the presence of high level of total coliforms, in disagreement with the Algerian regulation, the rest of milk are considered satisfactory. In Tiaret

district, Aggad *et al*.[5] also found a high incidence (31%) of TC in pasteurized cow milk; as well, Shaltout *et al*.[2125] and Kunda *et al*.[2226] reported an elevated range (22 and 57%, in Jordan and Zambia, respectively). In contrast, Kunda *et al.*[2327] revealed a very low count of coliforms (4.8%) in raw milk, because of good hygienic practice. A possible explanation of the high level of TC is the milk contamination after processing; during packaging, or the use of poor quality packaging material. In addition, a probable contamination by polluted added water, after butter extraction, can occur. In fact, the presence of fecal coliforms reflects a recent fecal contamination, because these bacteria live primarily in the external environment [5,2428]. Nevertheless, according to Afif *et al.*[2529], the existence of coliforms may not necessarily indicate a direct fecal contamination of milk, but more precisely as an indicator of poor hygiene and sanitary practices during milking and further handling.

Fecal coliforms were present in 41% of total samples; while, Aggad *et al.*[5] by checking pasteurized milk in Tiaret district found only 2% of contamination. The presence of these pathogens with a high level seems to be linked to several factors; like failure of pasteurization, the personnel hygiene default, the failure of decontamination protocol of equipment and premises, and poor conditions of storage or milk protection. Furthermore, germs' ability to withstand pasteurization, the thermoduric bacteria can limit the shelf life of pasteurized milk [2630]. According to Guiraud [11] their presence at an abnormal rate indicates a poor general hygiene.

S. aureus was present in 61% of the checked milks; which is very considerable. Unlike, Leite *et al.*[2731] did not detect *S. aureus* in the pasteurized milk in Salvador. Nevertheless, Srairi *et al*.[2832] found 30% of contaminated raw milk, in Morocco. The presence of *S. aureus* in milk causes food poisoning; it is one of the most common causes of reported foodborne diseases, which is a major risk to public health [2933]. This sanitary problem can occur under certain conditions of heat-stable enterotoxin that can withstand heat treatments [3034] or when heat treatment process is ineffective; faulty pasteurization will not destroy all foodborne pathogens [31-3335-37]. Thus, according to Oliver *et al*.[3337] the increasing number of reports on detection of foodborne pathogens in pasteurized fluid milk and ready-to-eat dairy products clearly indicates that pasteurization alone is not the final solution for the control of milk-borne pathogens.

The SRC are reported in 34% checked samples. These germs are used as hygiene controls in the microbiological analysis of a number of food products. Their presence in pasteurized milk reflects a failure of pasteurization or contamination after pasteurization. Most of thermoduric bacteria grow slowly in refrigerated milk and are generally outgrown by Gram-negative psychrotrophic species that gain entry primarily as post-pasteurization contaminants [3438]. However, in the absence of psychrotrophic bacteria or if large numbers of thermoduric bacteria survive pasteurization; certain thermodurics particularly psychrotrophic spore forming *Bacillus spp.* can grow and cause milk spoilage [3539].

The fecal streptococci are potential fecal contamination agents; they are the most commonly used alternative or adjunct to coliform bacteria as faecal pollution indicators [3640]. We found these pathogens in all checked samples; which means that contamination occurred, on a large scale, before and / or during milk processing. Fecal streptococci may play a role in food poisoning [20].

At last, with regard to its poor hygienic quality, it appears clearly that checked pasteurized and marketed milk in Tiaret district is strongly similar to the raw milk collected in bad hygienic condition around world [25, 31,37,38,3929,35,41-43].

CONCLUSION

Pasteurization of milk assures safety for human consumption by reducing the number of live pathogenic bacteria present; thus, the public health benefits of pasteurization are well established. But, our study revealed that checked samples of pasteurized milks were not in compliance with sanitary regulation and its abundance with potential harmful germs constitute a serious health hazard. It is difficult to know if contamination has occurred after an effective pasteurization or it is due to failure of the process.

Consequently, urgent measures are required from the side of the responsible authorities to ensure pasteurization process effectiveness and to survey chain milk production.

Conflict of interests

None.

REFERENCES

1. Anonymous, 2010. Basic dairy bacteriology. Dairy Foods Science Notes. Department of Food Science Stocking Hall, Cornell University, Ithaca, NY, pp: 10.
2. MPI NZ (Ministry for Primary Industries, New Zealand), 2013. An Assessment of the Effects of Pasteurisation on Claimed Nutrition and Health Benefits of Raw Milk MPI Technical Paper No: 2014/13 ISBN No: 978-0-478-43209-1. ISSN New Zealand Government No: 2253-3923, October.
3. Fleming, D.W., S.L. Cochi, K.L. Mac Donald, J. Brondum, P.S. Hayes, B.D. Plikaytis and J.P. Giraud, 1998. Food microbiology, main food products microbiology. Ed., Dunod Paris, pp: 652.
4. Aggad, H., F. Mahouz, Y. Ahmed Ammar and M. Kihal, 2009. Evaluation of milk hygienic quality in Western Algeria. Rev. Méd. Vét., 160 (12): 590-595.
5. Aggad, H., M. Bridja, AeK. Bouhai, M. Benaouali and A. Djebli, 2010. Some Quality Aspects of Pasteurized Milk in Algeria. World Journal of Dairy and Food Sciences,5 (1): 21-24.
6. Labioui, H., L. Elmoualdi, A. Benzarouka, M. Elyachioui and M. Bernyouhssine, 2009. Etude physico-chimique et microbiologique des laits crus. Ed., bull. Soc. Pharm.Bordeaux, pp: 07-16.
7. Mathieu, J., 1998. Initiation de la physico-chimique du lait. Edition technique et documentation. Ed., Lavoisier, Paris, pp : 220.
8. Abiazar, R., 2007. Complication des protéines laitières par les extraits verts de caroubier. Proprités technologiques des coagulums obtenus. Ed., Agroparistech Ecole Doctorale Abies, Paris, pp : 76.
9. JORA (Journal Officiel de la République Algérienne), 2013. Arrêté ministériel Du 16 aout 2012 rendant obligatoire la méthode de détermination de la teneur en matière sèche dans le lait, la crème et le lait concentré non sucré. N° 54, pp : 25-27.
10. Audigier, C.I., J.F. Figarella and C. Zonszain, 1980. Biochemical analysis engineering. 4 publishing. Publishing Doin Ed., Paris, pp. 265.
11. Giraud, J.P., 1998. Food microbiology, main food products microbiology. Ed., Dunod Paris, pp: 652.
12. JORA (Journal Officiel de la République Algérienne), 1998. Interministerial Decree. Specifications of some foodstuffs. N°35, pp. 199.
13. Catsaras, M. and C. Bourgeois, 1980. Les indices de contamination fécale : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Le contrôle microbiologique Vol 3. Tec et Doc Lavoisier. APRIA, pp : 331.
14. Joffin, C. and J.N. Joffin, 1999. Food microbiology. Collection biology and technique 5th publishing, pp: 211.
15. JORA (Journal Officiel de la Republique Algerienne), 2004. Ministerial Decree. Making obligatory a microbiological control method in pasteurized milk. N°70, pp: 19-22.
16. Schmidt, K.A., J. Stupar, J.E. Shirley, S. Adapa and D. Sukup, 1996. Factors affecting titratable acidity in raw milk Dairy Day, 1996, Kansas State University, Manhattan, KS, 60-62. URI: http://hdl.handle.net/2097/8804
17. Vignola, C.L., 2002. Science et technologie du lait: transformation du lait. Ed., presse international polytechnique, Ecole Polytechnique de Montréal, pp: 26.
18. Veisseyre, R., 1975. Dairy technology: Building, harvesting, treatment and transformation. Ed., La Maison Rustique Paris, pp: 230.
19. Bourgeois, C.M., J.F. Mescele and J. Zucca, 1996. Food Microbiology (Tome 01); microbiological aspect of safety and quality of food. Publishing technique and documentation Lavoisier Paris, pp: 272-292.
20. Guiraud, J.P. and JP Rosec, 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Ed., AFNOR, pp: 298.
21. Sarkar, S., 2015. Microbiological Considerations: Pasteurized Milk. International Journal of Dairy Science, 10 (5): 206-218.
22. Marchand, S.,J. De Block, V. De Jonghe,A. Coorevits,M. Heyndrickx and L. Herman, 2012. Biofilm Formation in Milk Production and Processing Environments; Influence on Milk Quality and Safety. Rev. Food. Sci. Food Safety, 11: 133-147.
23. Malek, F., B. Moussa-Boudjemâa,F. Khaouani-Yousfi,A. Kalai and M. Kihel, 2012. Microflora of biofilm on Algerian dairy processing lines: An approach to improve microbial quality of pasteurized milk.Afr. J. Microbiol. Res.,6(17): 3836-3844.

24. Cherif-Antar, A., B. Moussa-Boudjemâa, N. Didouh, K. Medjahdi, B.MayoandA.B. Flórez, 2016. Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant. Dairy Sci. & Technol., 96: 27–38.
25. Shaltout, F., H. Abdel-Samei, Y. Al-Tarazi and A.Al-Zamil, 2003. Sanitary status of raw cow milk marketed in northern Jordan. Assiut Vet. Med. J.,49:180-194.
26. Kunda, B., G.S. Pandey and J.B. Muma, 2015. Compositional and sanitary quality of raw milk produced by smallholder dairy farmers in Lusaka Province of Zambia. Livestock Res. Rural Dev., 27: 201.
27. Kunda, B., G.S. Pandey, C. Mubita, J.B. Muma and C. Mumba, 2015. Compositional and microbial quality of heat-treated milk brands marketed in Lusaka, Zambia. Livestock Res. Rural Dev., 27: 143.
28. Douglas, J.R., 2003. Bulk tank cultures are the dairy man best friend. University of Wisconsin milking research and instruction lab (Report) N°2223(Report N°2223).
29. Afif, A., M. Faid and M. Najimi, 2007. Effects of breeding and hygienic practices on raw cow milk quality in Tadla area, Morocco. Livestock Res. Rural Dev., 19:181.
30. TeGiffel, M.T., 1997. Isolation, identification and characterization of Bacillus cereus from the dairy environment. Thesis, Land Bouw Universiteit, Wageningen, ISBN: 90-5485- 694-7.
31. Leite, C.C., A.G. Guimarães, P.N. Assis, M.D. Silva and C.S. Andrade, 2002. Qualidadebacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador-Bahia. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., 3: 21-25.
32. Sraïri, M.T., J. Moudnib, L. Rahho and A. Hamama, 2006. How do milking conditions affect the hygienic quality of raw milk? Case study from Moroccan dairy farms. Livestock Res. Rural Dev., 18: 97.
33. Kadariya, J., T.C. Smith and D. Thapaliya, 2014. Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. Art ID 827965, 9 p. http://dx.doi.org/10.1155/2014/827965
34. Larpent, J.P., 1997. Microbiologie alimentaire : Technique de laboratoire, Ed., Doc Tec, pp : 1072.
35. Jorgensen, H.J., T. Mork, H.R. Hogasen and L.M. Rorvik, 2005. Enterotoxigenic Staphylococcus aureus in bulk milk in Norway. J. Appl. Microbiol.,99:158-166.
36. Fagundes, H., L. Barchesi, A. Nader Filho, L. Menezes Ferreira, C. Augusto and F. Oliveira, 2010. Occurrence of staphylococcus aureus in raw milk produced in dairy farms in São Paulo State, Brazil. Braz.J. Microbiol., 41: 376-380.
37. Oliver, S.P., B.M. Jayarao and R. Almeida, 2005. Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications, a Review. Foodborne Pathog. Dis.,2: 2. doi:10.1089/fpd.2005.2.115.
38. Cousin, M.A., 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products. J. Food prot., 45: 172.
39. Overcast, W.W. and K. Atmaram, 1974. The role of bacillus cereus in sweet curdling of fluid milk. J. Milk Food Technol.,37: 233.
40. Sinton, L.W., A.M. Donnison and C.M. Hastie, 1993. Fecal streptococci as fecal pollution indicators: A review. Part I: Taxonomy and enumeration, New Zeal. J. Mar. Fresh., 27(1): 101-115.
41. Chye, F. Y., A. Abdullah and M K Ayob, 2004. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. Food Microbiol.,21(5): 535-541.
42. Schooman, L. and E.S. Swai, 2011. Marketing, handling and physical quality of raw marketed milk in Tanga region of Tanzania. Livestock Res. Rural Dev., 23:191.
43. Hidalgo-Milpa, M., E. Sánchez-Vera and A. Espinoza-Ortega, 2015. Quality of milk in a traditional milk-cheese chain in the highlands of central Mexico. Livestock Res. Rural Dev., 27:232.